

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和3年5月20日(2021.5.20)

【公表番号】特表2020-522262(P2020-522262A)

【公表日】令和2年7月30日(2020.7.30)

【年通号数】公開・登録公報2020-030

【出願番号】特願2019-566787(P2019-566787)

【国際特許分類】

C 1 2 Q	1/6869	(2018.01)
C 1 2 Q	1/68	(2018.01)
C 1 2 Q	1/686	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6813	(2018.01)
C 0 7 K	16/18	(2006.01)
C 1 2 Q	1/6809	(2018.01)
C 1 2 Q	1/6874	(2018.01)
C 1 2 N	15/11	(2006.01)
G 0 1 N	33/53	(2006.01)
G 0 1 N	33/543	(2006.01)
G 0 1 N	33/48	(2006.01)
G 0 1 N	33/566	(2006.01)
C 0 7 K	16/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 Q	1/6869	Z
C 1 2 Q	1/68	Z N A
C 1 2 Q	1/686	Z
C 1 2 Q	1/6813	Z
C 1 2 Q	1/68	1 0 0 Z
C 0 7 K	16/18	
C 1 2 Q	1/6809	Z
C 1 2 Q	1/6874	Z
C 1 2 N	15/11	Z
G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/53	Y
G 0 1 N	33/543	5 0 1 D
G 0 1 N	33/48	P
G 0 1 N	33/566	
C 0 7 K	16/00	

【誤訳訂正書】

【提出日】令和3年3月29日(2021.3.29)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 0 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 0 5】

本明細書に開示されるものには、サンプル同定のための方法が含まれる。いくつかの実施形態では、本方法は、複数のサンプルの各々に由来する1つ以上の細胞を、複数のサンプルインデックス付加組成物(サンプルインデックス用組成物、sample indexing compos

ition) のうちの 1 つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、1 つ以上の細胞が、1 つ以上の抗原標的を含み、複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも 1 つのサンプルインデックス付加組成物が、2 つ以上の抗原結合試薬（たとえば、タンパク質結合試薬及び抗体）を含み、2 つ以上の抗原結合試薬の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられ、2 つ以上の抗原結合試薬の少なくとも 1 つが、1 つ以上の抗原標的の少なくとも 1 つに特異的に結合することが可能であり、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも 2 つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；複数のバーコードを用いて、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と；複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのサンプル起源を同定する工程（たとえば、少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのサンプルインデックス付加配列に基づいて、1 つ以上の細胞の少なくとも 1 つの細胞のサンプル起源を同定する工程（たとえば、少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのサンプル起源を同定する工程）と、を含む。本方法は、たとえば、複数のサンプルインデックス付加組成物の未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程を含みうる。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 6 8 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 6 8 5】

いくつかの実施形態では、本キットは、DNA ポリメラーゼを含む。本キットは、逆転写酵素を含みうる。本キットは、モロニーマウス白血病ウイルス (M - M L V) 逆転写酵素又は T a q DNA ポリメラーゼを含みうる。いくつかの実施形態では、本方法は、固定剤（たとえば、ホルマリン、パラホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド / 四酸化オスミウム、アルコール系固定液、H e p e s - グルタミン酸緩衝液媒介性有機溶媒保護効果 (H O P E)、ブアン溶液、又はそれらの任意の組合せ）を含む。

本発明のまた別の態様は、以下のとおりであってもよい。

[1] サンプル同定のための方法であって、

複数のサンプルの各々に由来する 1 つ以上の細胞を、複数のサンプルインデックス付加組成物のうちの 1 つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記 1 つ以上の細胞が、1 つ以上のタンパク質標的を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも 1 つのサンプルインデックス付加組成物が、2 つ以上のタンパク質結合試薬を含み、前記 2 つ以上のタンパク質結合試薬の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられ、前記 2 つ以上のタンパク質結合試薬の少なくとも 1 つが、前記 1 つ以上のタンパク質標的の少なくとも 1 つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも 2 つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記1つ以上の細胞の少なくとも1つの細胞のサンプル起源を同定する工程と、

を含む、方法。

[2]サンプル同定のための方法であって、

複数のサンプルの各々に由来する1つ以上の細胞を、複数のサンプルインデックス付加組成物のうちの1つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記1つ以上の細胞の各々が、1つ以上の細胞成分標的を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも1つのサンプルインデックス付加組成物が、2つ以上の細胞成分結合試薬を含み、前記2つ以上の細胞成分結合試薬の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられ、前記2つ以上の細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記1つ以上の細胞の少なくとも1つの細胞のサンプル起源を同定する工程と、

を含む、方法。

[3]前記2つ以上の細胞成分結合試薬が、2つ以上のタンパク質結合試薬を含み、前記2つ以上のタンパク質結合試薬の各々が、対応する細胞成分結合試薬に関連付けられた前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられ、前記1つ以上の細胞成分標的が、1つ以上のタンパク質標的を含む、前記[2]に記載の方法。

[4]前記少なくとも1つの細胞の前記サンプル起源を同定する工程が、前記少なくとも1つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記複数のバーコード付き標的のサンプル起源を同定する工程を含む、前記[1]～[3]のいずれか一項に記載の方法。

[5]サンプル同定のための方法であって、

複数のサンプルの各々に由来する1つ以上の細胞を、複数のサンプルインデックス付加組成物のうちの1つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記1つ以上の細胞の各々が、1つ以上の細胞成分標的を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも1つのサンプルインデックス付加組成物が、2つ以上の細胞成分結合試薬を含み、前記2つ以上の細胞成分結合試薬の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられ、前記2つ以上の細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも1つのサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記1つ以上の細胞の少なくとも1つの細胞のサンプル起源を同定する工程と、を含む、方法。

[6] 前記 2 つ以上の細胞成分結合試薬が、2 つ以上のタンパク質結合試薬を含み、前記 2 つ以上のタンパク質結合試薬の各々が、対応する細胞成分結合試薬に関連付けられた前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられ、前記 1 つ以上の細胞成分標的が、1 つ以上のタンパク質標的を含む、前記 [5] に記載の方法。

[7] 前記少なくとも 1 つの細胞の前記サンプル起源を同定する工程が、複数のバーコードを用いて、前記複数のサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記シーケンシングデータ中の前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記細胞の前記サンプル起源を同定する工程と、を含む、前記 [5] ~ [6] のいずれか一項に記載の方法。

[8] 前記少なくとも 1 つの細胞の前記サンプル起源を同定する工程が、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも 1 つのサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列の存在又は非存在を同定する工程を含む、前記 [5] ~ [7] のいずれか一項に記載の方法。

[9] 前記サンプルインデックス付加配列の存在又は非存在を同定する工程が、前記少なくとも 1 つのサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製して、複数の複製されたサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と；

前記複数の複製されたサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記シーケンシングデータ中の前記少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに対応する前記複数のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの複製されたサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記細胞の前記サンプル起源を同定する工程と、を含む、前記 [8] に記載の方法。

[10] 前記少なくとも 1 つのサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製して、前記複数の複製されたサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程が、前記少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製する前に、複製アダプターを、前記少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにライゲートする工程を含み、

前記少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製する工程が、前記少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにライゲートされた前記複製アダプターを用いて、前記少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製して、前記複数の複製されたサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記 [9] に記載の方法。

[11] 前記少なくとも 1 つのサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製して、前記複数の複製されたサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程が、前記少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製する前に、

捕捉プローブを、前記少なくとも 1 つのサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと接触させて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた捕捉プローブを生成する工程と；

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記捕捉プローブを伸長して、前記捕捉プローブに関連付けられたサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含み、

前記少なくとも 1 つのサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製する工程が

、前記捕捉プローブに関連付けられた前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを複製して、前記複数の複製されたサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔9〕に記載の方法。

〔12〕前記サンプルインデックス付加配列が、6～60ヌクレオチド長である、前記〔1〕～〔11〕のいずれか一項に記載の方法。

〔13〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、50～500ヌクレオチド長である、前記〔1〕～〔12〕のいずれか一項に記載の方法。

〔14〕前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも10、100、1000、又はそれらの組合せのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む、前記〔1〕～〔13〕のいずれか一項に記載の方法。

〔15〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、抗体、四量体、アブタマー、タンパク質骨格、又はそれらの組合せを含む、前記〔1〕～〔14〕のいずれか一項に記載の方法。

〔16〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記細胞成分結合試薬に結合される、前記〔1〕～〔15〕のいずれか一項に記載の方法。

〔17〕前記複数のサンプルの少なくとも1つのサンプルが、単一細胞を含む、前記〔1〕～〔16〕のいずれか一項に記載の方法。

〔18〕前記1つ以上のタンパク質標的、又は前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つが、細胞表面上にある、前記〔1〕～〔17〕のいずれか一項に記載の方法。

〔19〕前記複数のサンプルインデックス付加組成物の未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程を含む、前記〔1〕～〔18〕のいずれか一項に記載の方法。

〔20〕前記未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程が、前記複数のサンプルの各々に由来する前記1つ以上の細胞を、洗浄緩衝液で洗浄する工程を含む、前記〔19〕に記載の方法。

〔21〕前記未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程が、フローサイトメトリーを用いて、前記2つのサンプルインデックス付加組成物のうちの少なくとも1つの細胞成分結合試薬に結合された細胞を選択する工程を含む、前記〔19〕に記載の方法。

〔22〕前記複数のサンプルの各々から前記1つ以上の細胞を溶解させる工程を含む、前記〔1〕～〔21〕のいずれか一項に記載の方法。

〔23〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記細胞成分結合試薬から切り離し可能又は切り離し不可能であるように構成される、前記〔1〕～〔22〕のいずれか一項に記載の方法。

〔24〕前記細胞成分結合試薬から前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔1〕～〔23〕のいずれか一項に記載の方法。

〔25〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程が、UV光切断、化学処理、加熱、酵素処理、又はそれらの任意の組合せにより前記細胞成分結合試薬から前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔24〕に記載の方法。

〔26〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記1つ以上の細胞のいずれかのゲノム配列に対して相同でないか、1つの種のゲノム配列に対して相同であるか、又はそれらの組合せである、前記〔1〕～〔25〕のいずれか一項に記載の方法。

〔27〕前記種が、非哺乳動物種である、前記〔26〕に記載の方法。

〔28〕前記複数のサンプルのうちの1つのサンプルが、複数の細胞、組織、腫瘍サンプル、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔1〕～〔27〕のいずれか一項に記載の方法。

〔29〕前記複数のサンプルが、哺乳動物細胞、細菌細胞、ウイルス細胞、酵母細胞、真菌細胞、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔1〕～〔28〕のいずれか一項に記載の方法。

〔30〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記サンプルインデック

ス付加オリゴヌクレオチドの前記配列を捕捉するように構成された捕捉配列に相補的な配列を含む、前記〔1〕～〔29〕のいずれか一項に記載の方法。

〔31〕前記バーコードが、前記捕捉配列を含む標的結合領域を含む、前記〔30〕に記載の方法。

〔32〕前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔31〕に記載の方法。

〔33〕前記捕捉配列に相補的な前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記配列が、ポリ(dA)領域を含む、前記〔30〕～〔32〕のいずれか一項に記載の方法。

〔34〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、分子標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はその両方を含む、前記〔1〕～〔33〕のいずれか一項に記載の方法。

〔35〕前記タンパク質標的、又は前記細胞成分標的が、炭水化物、脂質、タンパク質、細胞外タンパク質、細胞表面タンパク質、細胞マーカー、B細胞レセプター、T細胞レセプター、主要組織適合性複合体、腫瘍抗原、レセプター、細胞内タンパク質又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔1〕～〔34〕のいずれか一項に記載の方法。

〔36〕前記タンパク質標的、又は前記細胞成分標的が、10～100の異なるタンパク質標的、又は細胞成分標的を含む群から選択される、前記〔1〕～〔35〕のいずれか一項に記載の方法。

〔37〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、同一の配列を有する2つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔1〕～〔36〕のいずれか一項に記載の方法。

〔38〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、異なるサンプルインデックス付加配列を有する2つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔1〕～〔36〕のいずれか一項に記載の方法。

〔39〕前記複数のサンプルインデックス付加組成物の前記サンプルインデックス付加組成物が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられない第2のタンパク質結合試薬、又は前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられない第2の細胞成分結合試薬を含む、前記〔1〕～〔38〕のいずれか一項に記載の方法。

〔40〕前記タンパク質結合試薬及び前記第2のタンパク質結合試薬が同一であるか、又は前記細胞成分結合試薬及び前記第2の細胞成分結合試薬が同一である、前記〔39〕に記載の方法。

〔41〕前記複数のサンプルインデックス付加組成物の各々が、前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬を含む、前記〔1〕～〔40〕のいずれか一項に記載の方法。

〔42〕前記2つ以上のタンパク質結合試薬、又は前記2つ以上の細胞成分結合試薬に関連付けられた前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列が、同一である、前記〔1〕～〔40〕のいずれか一項に記載の方法。

〔43〕2つ以上のタンパク質結合試薬、又は前記2つ以上の細胞成分結合試薬に関連付けられた前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む、前記〔1〕～〔40〕のいずれか一項に記載の方法。

〔44〕前記複数のサンプルインデックス付加組成物の各々が、前記2つ以上のタンパク質結合試薬、又は前記2つ以上の細胞成分結合試薬を含む、前記〔1〕～〔43〕のいずれか一項に記載の方法。

〔45〕前記複数のバーコードのバーコードが、標的結合領域及び分子標識配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの分子標識配列が、異なる分子標識配列を含む、前記〔1〕～〔44〕のいずれか一項に記載の方法。

〔46〕前記バーコードが、細胞標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔45〕に記載の方法。

〔47〕前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔45〕～〔46〕のいず

れか一項に記載の方法。

[48] 前記複数のバーコードが、粒子に関連付けられる、前記〔45〕～〔47〕のいずれか一項に記載の方法。

[49] 前記複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードが、前記粒子上に固定されるか、前記粒子上に部分的に固定されるか、前記粒子に封入されるか、前記粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔48〕に記載の方法。

[50] 前記粒子が崩壊性である、前記〔48〕～〔49〕のいずれか一項に記載の方法。

。 [51] 前記粒子がビーズを含む、前記〔48〕～〔50〕のいずれか一項に記載の方法。

。 [52] 前記粒子が、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテインAコンジュゲートビーズ、プロテインGコンジュゲートビーズ、プロテインA/Gコンジュゲートビーズ、プロテインLコンジュゲートビーズ、オリゴ(dT)コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記粒子が、ポリジメチルシロキサン(PDMS)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チタン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される材料を含む、前記〔48〕～〔51〕のいずれか一項に記載の方法。

[53] 前記粒子が、崩壊性ヒドロゲルビーズを含む、前記〔48〕～〔52〕のいずれか一項に記載の方法。

[54] 前記粒子の前記バーコードが、少なくとも1000、10000、又はそれらの組合せの異なる分子標識配列から選択される分子標識配列を含む、前記〔48〕～〔53〕のいずれか一項に記載の方法。

[55] 前記バーコードの前記分子標識配列が、ランダム配列を含む、前記〔54〕に記載の方法。

[56] 前記粒子が、少なくとも10000のバーコードを含む、前記〔48〕～〔55〕のいずれか一項に記載の方法。

[57] 前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程が、

前記複数のバーコードを、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと接触させて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされたバーコードを生成する工程と；

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記〔48〕～〔56〕のいずれか一項に記載の方法。

[58] 前記バーコードを伸長する工程が、DNAポリメラーゼを用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔57〕に記載の方法。

[59] 前記バーコードを伸長する工程が、逆転写酵素を用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔57〕に記載の方法。

[60] 複数のアンプリコンを生成するために、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記〔57〕～〔59〕のいずれか一項に記載の方法。

[61] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応(PCR)を用いて、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部を増幅する工程を含む、前記〔60〕に記載の方法。

[6 2] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記複数のアンプリコンのシーケンシングデータを取得する工程を含む、前記〔 6 0 〕～〔 6 1 〕のいずれか一項に記載の方法。

[6 3] 前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部をシーケンシングする工程を含む、前記〔 6 2 〕に記載の方法。

[6 4] 前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔 1 〕～〔 6 3 〕のいずれか一項に記載の方法。

[6 5] 前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の複数の標的にバーコードを付けて、複数のバーコード付き標的を生成する工程であって、前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも 2 つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記バーコード付き標的のシーケンシングデータを取得する工程と、を含む、前記〔 1 〕～〔 6 4 〕のいずれか一項に記載の方法。

[6 6] 前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、

前記標的のコピーを、前記バーコードの標的結合領域と接触させる工程と；

前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的を逆転写して、複数の逆転写された標的を生成する工程と、を含む、前記〔 6 5 〕に記載の方法。

[6 7] 前記複数のバーコード付き標的の前記シーケンシングデータを取得する工程の前に、前記バーコード付き標的を増幅して、複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔 6 5 〕～〔 6 6 〕のいずれか一項に記載の方法。

[6 8] 前記バーコード付き標的を増幅して、前記複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（ P C R ）によって前記バーコード付き標的を増幅する工程を含む、前記〔 6 7 〕に記載の方法。

[6 9] 前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的に確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔 6 5 〕～〔 6 8 〕のいずれか一項に記載の方法。

[7 0] 複数のサンプルインデックス付加組成物であって、

前記複数のサンプルインデックス付加組成物の各々が、2 つ以上の細胞成分結合試薬を含み、

前記2 つ以上の細胞成分結合試薬の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられ、

前記2 つ以上の細胞成分結合試薬の少なくとも1 つが、少なくとも1 つの細胞成分標的に特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルの1 つ以上の細胞のサンプル起源を同定するためのサンプルインデックス付加配列を含み、

前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも2 つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む、複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 1] 前記サンプルインデックス付加配列が、6 ～ 6 0 ヌクレオチド長である、前記〔 7 0 〕に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 2] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、5 0 ～ 5 0 0 ヌクレオチド長である、前記〔 7 0 〕～〔 7 1 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 3] 前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも 1 0 、 1 0 0 、 1 0 0 0 、又はそれらの組合せのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む、前記〔 7 0 〕～〔 7 2 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 4] 前記細胞成分結合試薬が、抗体、四量体、アプタマー、タンパク質骨格、又はそれらの組合せを含む、前記〔 7 0 〕～〔 7 3 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 5] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記細胞成分結合試薬に結合される、前記〔 7 0 〕～〔 7 4 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 6] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記 1 つ以上の細胞のいずれかのゲノム配列に対して相同でない、前記〔 7 0 〕～〔 7 5 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 7] 前記複数のサンプルの少なくとも 1 つのサンプルが、単一細胞、複数の細胞、組織、腫瘍サンプル、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔 7 6 〕に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 8] 前記サンプルが、哺乳動物サンプル、細菌サンプル、ウイルスサンプル、酵母サンプル、真菌サンプル、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔 7 6 〕～〔 7 7 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[7 9] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、分子標識配列、ポリ(dA)領域、又はそれらの組合せを含む、前記〔 7 0 〕～〔 7 8 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[8 0] 前記細胞成分標的が、細胞表面タンパク質、細胞マーカー、B 細胞レセプター、T 細胞レセプター、主要組織適合性複合体、腫瘍抗原、レセプター、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔 7 0 〕～〔 7 9 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[8 1] 前記細胞成分標的が、1 0 ～ 1 0 0 の異なる細胞成分標的を含む群から選択される、前記〔 7 0 〕～〔 8 0 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[8 2] 前記細胞成分結合試薬が、同一の配列を有する 2 つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔 7 0 〕～〔 8 1 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[8 3] 前記細胞成分結合試薬が、異なるサンプルインデックス付加配列を有する 2 つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔 7 0 〕～〔 8 1 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[8 4] 前記複数のサンプルインデックス付加組成物の前記サンプルインデックス付加組成物が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられない第 2 の細胞成分結合試薬を含む、前記〔 7 0 〕～〔 8 3 〕のいずれか一項に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[8 5] 前記細胞成分結合試薬及び前記第 2 の細胞成分結合試薬が、同一である、前記〔 8 4 〕に記載の複数のサンプルインデックス付加組成物。

[8 6] コントロール粒子に関連付けられた複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドを含むコントロール粒子組成物であって、

前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの各々が、コントロールバーコード配列及びポリ(dA)領域を含む、コントロール粒子組成物。

[8 7] 前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも 2 つが、異なるコントロールバーコード配列を含む、前記〔 8 6 〕に記載のコントロール粒子組成物。

[8 8] 前記コントロールバーコード配列が、6 ～ 6 0 ヌクレオチド長である、前記〔 8 6 〕～〔 8 7 〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

[8 9] 前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、5 0 ～ 5 0 0 ヌクレオチド長であ

る、前記〔86〕～〔88〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも5、10、100、1000、又はそれらの組合せの前記コントロールバーコード配列が同一である、前記〔86〕～〔89〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔90〕前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも3、5、10、100、又はそれらの組合せが、異なるコントロールバーコード配列を含む、前記〔86〕～〔89〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔91〕前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドが、

第1のコントロールバーコード配列を各々が含む複数の第1のコントロール粒子オリゴヌクレオチドと、

第2のコントロールバーコード配列を各々が含む複数の第2のコントロール粒子オリゴヌクレオチドと、を含み、

前記第1のコントロールバーコード配列及び前記第2のコントロールバーコード配列が、異なる配列を有する、前記〔86〕～〔90〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔92〕前記複数の第1のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数及び前記複数の第2のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数がほぼ同じである、前記〔91〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔93〕前記複数の第1のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数及び前記複数の第2のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数が異なる、前記〔91〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔94〕前記複数の第1のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数が、前記複数の第2のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数より少なくとも2倍、10倍、100倍、又はそれらの組合せだけ多い、前記〔93〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔95〕前記コントロールバーコード配列が、1つの種のゲノム配列に対して相同でない、前記〔86〕～〔94〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔96〕前記コントロールバーコード配列が、1つの種のゲノム配列に対して相同である、前記〔86〕～〔94〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔97〕前記種が、非哺乳動物種である、前記〔96〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔98〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、分子標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はその両方を含む、前記〔86〕～〔97〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔99〕前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも1つが、リンカーを介して前記コントロール粒子に関連付けられる、前記〔86〕～〔98〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔100〕前記コントロール粒子の直径が、約1～1000マイクロメートル、約10～100マイクロメートル、約7.5マイクロメートル、又はそれらの組合せである、前記〔86〕～〔99〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔101〕前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドが、前記コントロール粒子上に固定されるか、前記コントロール粒子上に部分的に固定されるか、前記コントロール粒子に封入されるか、前記コントロール粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔86〕～〔100〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔102〕前記コントロール粒子が崩壊性である、前記〔86〕～〔101〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔103〕前記コントロール粒子が、ビーズを含む、前記〔86〕～〔102〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔104〕前記コントロール粒子が、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテインAコンジュゲートビーズ、プロテインGコンジュゲートビーズ、プロテインA/Gコンジュゲートビーズ、ブ

ロテイン・コンジュゲートビーズ、オリゴ(dT)コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記コントロール粒子が、ポリジメチルシロキサン(PDM-S)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チタン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、又はそれらの任意の組合せの材料を含む、前記〔86〕～〔103〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔105〕前記コントロール粒子が、崩壊性ヒドロゲル粒子を含む、前記〔86〕～〔104〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔106〕前記コントロール粒子が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔86〕～〔105〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔107〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔86〕～〔106〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔108〕前記コントロール粒子が、複数の第1の細胞成分結合試薬に関連付けられ、前記複数の第1の細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの1つに関連付けられる、前記〔86〕～〔107〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔109〕前記第1の細胞成分結合試薬が、第1の抗体を含む、前記〔108〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔110〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記第1の細胞成分結合試薬に結合される、前記〔108〕～〔109〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔111〕前記第1の細胞成分結合試薬が、同一のコントロールバーコード配列を有する前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの2つ以上に関連付けられる、前記〔108〕～〔110〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔112〕前記第1の細胞成分結合試薬が、異なるコントロールバーコード配列を有する前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの2つ以上に関連付けられる、前記〔108〕～〔111〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔113〕前記複数の第1の細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドのいずれにも関連付けられない、前記〔108〕～〔112〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔114〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドに関連付けられた前記第1の細胞成分結合試薬及びいずれのコントロール粒子オリゴヌクレオチドにも関連付けられない前記第1の細胞成分結合試薬が、同一の細胞成分結合試薬である、前記〔113〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔115〕前記コントロール粒子が、複数の第2の細胞成分結合試薬に関連付けられる、前記〔108〕～〔114〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

〔116〕前記複数の第2の細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの1つに関連付けられる、前記〔115〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔117〕前記第1の細胞成分結合試薬に関連付けられた前記コントロール粒子オリゴヌクレオチド及び前記第2の細胞成分結合試薬に関連付けられた前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、異なるコントロールバーコード配列を含む、前記〔116〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔118〕前記第1の細胞成分結合試薬及び前記第2の細胞成分結合試薬が、同一の細胞成分結合試薬である、前記〔116〕に記載のコントロール粒子組成物。

〔119〕前記第1の細胞成分結合試薬が、パートナー結合試薬に関連付けられ、前記第1の細胞成分結合試薬が、前記パートナー結合試薬を用いて前記コントロール粒子に関連付けられる、前記〔108〕～〔118〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成

物。

[120] 前記パートナー結合試薬が、パートナー抗体を含む、前記〔119〕に記載のコントロール粒子組成物。

[121] 前記パートナー抗体が、抗ネコ抗体、抗ニワトリ抗体、抗ウシ抗体、抗イヌ抗体、抗ロバ抗体、抗ヤギ抗体、抗モルモット抗体、抗ハムスター抗体、抗ウマ抗体、抗ヒト抗体、抗ラマ抗体、抗サル抗体、抗マウス抗体、抗ブタ抗体、抗ウサギ抗体、抗ラット抗体、抗ヒツジ抗体、又はそれらの組合せを含む、前記〔120〕に記載のコントロール粒子組成物。

[122] 前記パートナー抗体が、免疫グロブリンG(IgG)、F(ab')フラグメント、F(ab')₂フラグメント、それらの組合せ、又はそれらのフラグメントを含む、前記〔120〕～〔121〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

[123] 前記第1の細胞成分結合試薬が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔108〕～〔122〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

[124] 前記第2の細胞成分結合試薬が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔108〕～〔123〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

[125] 前記〔86〕～〔124〕のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物と；

複数のバーコードと、

を含む、キット。

[126] 前記複数のバーコードのバーコードが、標的結合領域及び分子標識配列を含み、

前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの分子標識配列が、異なる分子標識配列を含む、前記〔125〕に記載のキット。

[127] 前記バーコードが、細胞標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔126〕に記載のキット。

[128] 前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔126〕～〔127〕のいずれか一項に記載のキット。

[129] 前記複数のバーコードが、バーコーディング粒子に関連付けられる、前記〔125〕～〔128〕のいずれか一項に記載のキット。

[130] 前記複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードが、前記バーコーディング粒子上に固定されるか、前記バーコーディング粒子上に部分的に固定されるか、前記バーコーディング粒子に封入されるか、前記バーコーディング粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔129〕に記載のキット。

[131] 前記バーコーディング粒子が崩壊性である、前記〔129〕～〔130〕のいずれか一項に記載のキット。

[132] 標的の数を決定するための方法であって、

複数の確率バーコードを用いて、複数の細胞のうちの1つの細胞の複数の標的及び複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドに確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付き標的及び複数の確率バーコード付きコントロール粒子オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数の確率バーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数の確率バーコードの少なくとも2つの確率バーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数の確率バーコードの少なくとも2つの確率バーコードが、同一の細胞標識配列を含み、

コントロール粒子組成物が、前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドに関連付けられたコントロール粒子を含み、前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの各々が、コントロールバーコード配列、及び前記複数の確率バーコードの少なくとも1つの標的結合領域に実質的に相補的な配列を含む擬似標的領域を含む工程と；

前記複数の確率バーコード付き標的及び前記複数の確率バーコード付きコントロール粒子オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記シーケンシングデータ中の前記コントロールバーコード配列を有する前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドに関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数をカウントする工程と；

前記複数の標的の少なくとも1つの標的について：

前記シーケンシングデータ中の前記標的に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数をカウントする工程と；

前記標的の数を推定する工程と、を含み、推定された前記標的の数が、カウントされた前記標的に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数及び前記コントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数に相関している、方法。

[133] 前記擬似標的領域が、ポリ(dA)領域を含む、前記[132]に記載の方法。

[134] 前記擬似標的領域が、前記標的の部分配列を含む、前記[132]～[133]のいずれか一項に記載の方法。

[135] 前記コントロールバーコード配列が、6～60ヌクレオチド長である、前記[132]～[134]のいずれか一項に記載の方法。

[136] 前記コントロールバーコードオリゴヌクレオチドが、50～500ヌクレオチド長である、前記[132]～[135]のいずれか一項に記載の方法。

[137] 前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも5、10、100、1000、又はそれらの組合せの前記コントロールバーコード配列が同一である、前記[132]～[136]のいずれか一項に記載の方法。

[138] 前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも3、5、10、100、又はそれらの組合せが、異なるコントロールバーコード配列を含む、前記[132]～[137]のいずれか一項に記載の方法。

[139] 前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドが、
第1のコントロールバーコード配列を各々が含む複数の第1のコントロール粒子オリゴヌクレオチドと、

第2のコントロールバーコード配列を各々が含む複数の第2のコントロール粒子オリゴヌクレオチドと、を含み、

前記第1のコントロールバーコード配列及び前記第2のコントロールバーコード配列が、異なる配列を有する、前記[132]～[138]のいずれか一項に記載の方法。

[140] 前記複数の第1のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数及び前記複数の第2のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数が、ほぼ同じである、前記[139]に記載の方法。

[141] 前記複数の第1のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数及び前記複数の第2のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数が、異なる、前記[139]に記載の方法。

[142] 前記複数の第1のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数が、前記複数の第2のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数より少なくとも2倍、10倍、100倍、又はそれらの組合せだけ多い、前記[141]に記載の方法。

[143] 前記シーケンシングデータ中の前記コントロールバーコード配列を有する前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドに関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数をカウントする工程が、

前記シーケンシングデータ中の前記第1のコントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数をカウントする工程と；

前記シーケンシングデータ中の前記第2のコントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数をカウントする工程と、を含む、前記[139]～[142]のいずれか一項に記載の方法。

[144] 推定された前記標的の数が、

カウントされた前記標的に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数、

前記第1のコントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数、及び

前記第2のコントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数

に相関している、前記〔143〕に記載の方法。

〔145〕推定された前記標的の数が、

カウントされた前記標的に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数、

前記コントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数、及び

前記コントロールバーコード配列を含む前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数

に相関している、前記〔132〕～〔144〕のいずれか一項に記載の方法。

〔146〕推定された前記標的の数が、

カウントされた前記標的に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数、及び

前記コントロールバーコード配列を含む前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの数と、

前記コントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数と、

の比率に相関している、前記〔145〕に記載の方法。

〔147〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、前記細胞のゲノム配列に対して相同でないか、1つの種のゲノム配列に対して相同でないか、1つの種のゲノム配列に対して相同であるか、又はそれらの組合せである、前記〔132〕～〔146〕のいずれか一項に記載の方法。

〔148〕前記種が、非哺乳動物種である、前記〔147〕に記載の方法。

〔149〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記コントロール粒子に結合される、前記〔132〕～〔148〕のいずれか一項に記載の方法。

〔150〕前記コントロール粒子の直径が、約1～1000マイクロメートル、約10～100マイクロメートル、約7.5マイクロメートル、又はそれらの組合せである、前記〔132〕～〔149〕のいずれか一項に記載の方法。

〔151〕前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドが、前記コントロール粒子上に固定されるか、前記コントロール粒子上に部分的に固定されるか、前記コントロール粒子に封入されるか、前記コントロール粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔132〕～〔150〕のいずれか一項に記載の方法。

〔152〕前記複数の標的及び前記コントロール粒子及び前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドに確率バーコードを付ける工程の前に、前記コントロール粒子から前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも1つを放出する工程を含む、前記〔132〕～〔151〕のいずれか一項に記載の方法。

〔153〕前記コントロール粒子が崩壊性である、前記〔132〕～〔152〕のいずれか一項に記載の方法。

〔154〕前記コントロール粒子が、コントロール粒子ビーズを含む、前記〔132〕～〔153〕のいずれか一項に記載の方法。

〔155〕前記コントロール粒子が、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテインAコンジュゲートビーズ、プロテインGコンジュゲートビーズ、プロテインA/Gコンジュゲートビーズ、プロテインLコンジュゲートビーズ、オリゴ(dT)コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記コントロール粒子が、ポリジメチルシロキサン(PDMS)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チ

タン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、又はそれらの任意の組合せの材料を含む、前記〔132〕～〔154〕のいずれか一項に記載の方法。

〔156〕前記コントロール粒子が、崩壊性ヒドロゲル粒子を含む、前記〔132〕～〔155〕のいずれか一項に記載の方法。

〔157〕前記コントロール粒子が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔132〕～〔156〕のいずれか一項に記載の方法。

〔158〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔132〕～〔157〕のいずれか一項に記載の方法。

〔159〕前記コントロール粒子が、複数の第1の細胞成分結合試薬に関連付けられ、前記複数の第1の細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの1つに関連付けられる、前記〔132〕～〔158〕のいずれか一項に記載の方法。

〔160〕前記第1の細胞成分結合試薬が、第1の抗体を含む、前記〔159〕に記載の方法。

〔161〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記第1の細胞成分結合試薬に結合される、前記〔159〕～〔160〕のいずれか一項に記載の方法。

〔162〕前記第1の細胞成分結合試薬が、同一のコントロールバーコード配列を有する前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの2つ以上に関連付けられる、前記〔159〕～〔161〕のいずれか一項に記載の方法。

〔163〕前記第1の細胞成分結合試薬が、異なるコントロールバーコード配列を有する前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの2つ以上に関連付けられる、前記〔159〕～〔162〕のいずれか一項に記載の方法。

〔164〕前記複数の第1の細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドのいずれにも関連付けられない、前記〔159〕～〔163〕のいずれか一項に記載の方法。

〔165〕前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドに関連付けられた前記第1の細胞成分結合試薬及びいずれのコントロール粒子オリゴヌクレオチドにも関連付けられない前記第1の細胞成分結合試薬が、同一の細胞成分結合試薬である、前記〔164〕に記載の方法。

〔166〕前記コントロール粒子が、複数の第2の細胞成分結合試薬に関連付けられる、前記〔164〕～〔165〕のいずれか一項に記載の方法。

〔167〕前記複数の第2の細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの1つに関連付けられる、前記〔166〕に記載の方法。

〔168〕前記第1の細胞成分結合試薬に関連付けられた前記コントロール粒子オリゴヌクレオチド及び前記第2の細胞成分結合試薬に関連付けられた前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドが、異なるコントロールバーコード配列を含む、前記〔167〕に記載の方法。

〔169〕前記第1の細胞成分結合試薬及び前記第2の細胞成分結合試薬が、同一の細胞成分結合試薬である、前記〔167〕に記載の方法。

〔170〕前記第1の細胞成分結合試薬が、パートナー結合試薬に関連付けられ、前記第1の細胞成分結合試薬が、前記パートナー結合試薬を用いて前記コントロール粒子に関連付けられる、前記〔159〕～〔169〕のいずれか一項に記載の方法。

〔171〕前記パートナー結合試薬が、パートナー抗体を含む、前記〔170〕に記載の方法。

〔172〕前記パートナー抗体が、抗ネコ抗体、抗ニワトリ抗体、抗ウシ抗体、抗イヌ抗体、抗ロバ抗体、抗ヤギ抗体、抗モルモット抗体、抗ハムスター抗体、抗ウマ抗体、抗ヒト抗体、抗ラマ抗体、抗サル抗体、抗マウス抗体、抗ブタ抗体、抗ウサギ抗体、抗ラット抗体、抗ヒツジ抗体、又はそれらの組合せを含む、前記〔171〕に記載の方法。

〔173〕前記パートナー抗体が、免疫グロブリンG(IgG)、F(ab')フラグメ

ント、 $F(a b')$ 、フラグメント、それらの組合せ、又はそれらのフラグメントを含む、前記〔171〕～〔172〕のいずれか一項に記載の方法。

〔174〕前記第1の細胞成分結合試薬が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔159〕～〔173〕のいずれか一項に記載の方法。

〔175〕前記第2の細胞成分結合試薬が、検出可能な部分、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はその両方に関連付けられる、前記〔159〕～〔174〕のいずれか一項に記載の方法。

〔176〕前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔132〕～〔175〕のいずれか一項に記載の方法。

〔177〕前記複数の確率バーコードが、バーコーディング粒子に関連付けられる、前記〔132〕～〔176〕のいずれか一項に記載の方法。

〔178〕前記複数の確率バーコードの少なくとも1つの確率バーコードが、前記バーコーディング粒子上に固定されるか、前記バーコーディング粒子上に部分的に固定されるか、前記バーコーディング粒子に封入されるか、前記バーコーディング粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔177〕に記載の方法。

〔179〕前記バーコーディング粒子が崩壊性である、前記〔177〕～〔178〕のいずれか一項に記載の方法。

〔180〕前記バーコーディング粒子が、バーコーディングビーズを含む、前記〔177〕～〔179〕のいずれか一項に記載の方法。

〔181〕前記バーコーディングビーズが、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテインAコンジュゲートビーズ、プロテインGコンジュゲートビーズ、プロテインA/Gコンジュゲートビーズ、プロテインLコンジュゲートビーズ、オリゴ(dT)コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記バーコーディング粒子が、ポリジメチルシロキサン(PDMS)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チタン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、又はそれらの任意の組合せの材料を含む、前記〔177〕～〔180〕のいずれか一項に記載の方法。

〔182〕前記バーコーディング粒子が、崩壊性ヒドロゲル粒子を含む、前記〔177〕～〔181〕のいずれか一項に記載の方法。

〔183〕前記バーコーディング粒子の前記確率バーコードが、少なくとも1000、10000、又はそれらの組合せの異なる分子標識配列から選択される分子標識配列を含む、前記〔177〕～〔182〕のいずれか一項に記載の方法。

〔184〕前記確率バーコードの前記分子標識配列が、ランダム配列を含む、前記〔177〕～〔183〕のいずれか一項に記載の方法。

〔185〕前記バーコーディング粒子が、少なくとも10000の確率バーコードを含む、前記〔177〕～〔184〕のいずれか一項に記載の方法。

〔186〕前記複数の確率バーコードを用いて、前記複数の標的及び前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドに確率バーコードを付ける工程が、

前記複数の確率バーコードを、前記複数の標的の標的及び前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドのコントロール粒子オリゴヌクレオチドと接触させて、前記標的及び前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた確率バーコードを生成する工程と；

前記標的及び前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記確率バーコードを伸長して、前記複数の確率バーコード付き標的及び前記複数の確率バーコード付きコントロール粒子オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記〔132〕～〔185〕のいずれか一項に記載の方法。

〔187〕前記確率バーコードを伸長する工程が、DNAポリメラーゼ、逆転写酵素、又

はそれらの組合せを用いて、前記確率バーコードを伸長する工程を含む、前記〔186〕に記載の方法。

〔188〕複数のアンプリコンを生成するために、前記複数の確率バーコード付き標的及び前記複数の確率バーコード付きコントロール粒子オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記〔132〕～〔187〕のいずれか一項に記載の方法。

〔189〕前記複数の確率バーコード付き標的及び前記複数の確率バーコード付きコントロール粒子オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（PCR）を用いて、

前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも一部、又は

前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも一部

を増幅する工程を含む、前記〔188〕に記載の方法。

〔190〕前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記複数のアンプリコンのシーケンシングデータを取得する工程を含む、前記〔188〕～〔189〕のいずれか一項に記載の方法。

〔191〕前記シーケンシングデータを取得する工程が、

前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも一部、又は

前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記コントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも一部

をシーケンシングする工程を含む、前記〔190〕に記載の方法。

〔192〕細胞同定のための方法であって、

第1の複数の細胞及び第2の複数の細胞を、それぞれ2つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記第1の複数の細胞の各々及び前記第2の複数の細胞の各々が、1つ以上の細胞成分標的を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

得られた前記シーケンシングデータ中の2つ以上のサンプルインデックス付加配列に関連付けられた細胞標識配列を同定する工程と；

得られた前記シーケンシングデータから、前記細胞標識配列に関連付けられたシーケンシングデータを除去する工程と、を含む、方法。

〔193〕前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞を、それぞれ前記2つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程が、

前記第1の複数の細胞を、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の第1のサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程と；

前記第1の複数の細胞を、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の第2のサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程と、を含む、前記〔192〕に記載の方法。

〔194〕前記サンプルインデックス付加配列が、6560ヌクレオチド長である、前記〔192〕～〔193〕のいずれか一項に記載の方法。

〔195〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、50～500ヌクレオチド長である、前記〔192〕～〔194〕のいずれか一項に記載の方法。

〔196〕前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも10、100、1000、又はそれらの組合せのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む、前記〔192〕～〔195〕のいずれか一項に記載の方法。

〔197〕前記細胞成分結合試薬が、抗体、四量体、アプタマー、タンパク質骨格、又はそれらの組合せを含む、前記〔192〕～〔196〕のいずれか一項に記載の方法。

〔198〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記細胞成分結合試薬に結合される、前記〔192〕～〔197〕のいずれか一項に記載の方法。

〔199〕前記複数のサンプルの少なくとも1つのサンプルが、単一細胞を含む、前記〔192〕～〔198〕のいずれか一項に記載の方法。

〔200〕前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つが、細胞表面上にある、前記〔192〕～〔199〕のいずれか一項に記載の方法。

〔201〕前記2つのサンプルインデックス付加組成物の未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程を含む、前記〔192〕～〔200〕のいずれか一項に記載の方法。

〔202〕前記未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程が、前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞の細胞を、洗浄緩衝液で洗浄する工程を含む、前記〔201〕に記載の方法。

〔203〕前記未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程が、フローサイトメトリーを用いて、前記2つのサンプルインデックス付加組成物のうちの少なくとも1つの細胞成分結合試薬に結合された細胞を選択する工程を含む、前記〔201〕に記載の方法。

〔204〕前記複数のサンプルの各々から前記1つ以上の細胞を溶解させる工程を含む、前記〔192〕～〔203〕のいずれか一項に記載の方法。

〔205〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記細胞成分結合試薬から切り離し可能又は切り離し不可能であるように構成される、前記〔192〕～〔204〕のいずれか一項に記載の方法。

〔206〕前記細胞成分結合試薬から前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔192〕～〔205〕のいずれか一項に記載の方法。

〔207〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程が、UV光切断、化学処理、加熱、酵素処理、又はそれらの任意の組合せにより前記細胞成分結合試薬から前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔206〕に記載の方法。

〔208〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記1つ以上の細胞のいずれかのゲノム配列に対して相同でないか、又は1つの種のゲノム配列に対して相同であるか、又はそれらの組合せである、前記〔192〕～〔207〕のいずれか一項に記載の方法。

〔209〕前記種が、非哺乳動物種である、前記〔208〕に記載の方法。

〔210〕前記複数のサンプルのうちの1つのサンプルが、複数の細胞、組織、腫瘍サンプル、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔192〕～〔209〕のいずれか一項に記載の方法。

〔211〕前記複数のサンプルが、哺乳動物細胞、細菌細胞、ウイルス細胞、酵母細胞、真菌細胞、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔192〕～〔210〕のいずれか一

項に記載の方法。

[212] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードの捕捉配列に相補的な配列を含む、前記〔192〕～〔211〕のいずれか一項に記載の方法。

[213] 前記バーコードが、前記捕捉配列を含む標的結合領域を含む、前記〔212〕に記載の方法。

[214] 前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔213〕に記載の方法。

〔215〕前記バーコードの前記捕捉配列に相補的な前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記配列が、ポリ(dA)領域を含む、前記〔212〕～〔214〕のいずれか一項に記載の方法。

[216] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、分子標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又は両方を含む、前記〔192〕～〔215〕のいずれか一項に記載の方法。

[217] 前記細胞成分標的が、炭水化物、脂質、タンパク質、細胞外タンパク質、細胞表面タンパク質、細胞マーカー、B細胞レセプター、T細胞レセプター、主要組織適合性複合体、腫瘍抗原、レセプター、細胞内タンパク質又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔192〕～〔216〕のいずれか一項に記載の方法。

[218] 前記細胞成分標的が、10～100の異なるタンパク質標的を含む群から選択される、前記〔192〕～〔217〕のいずれか一項に記載の方法。

[219] 前記細胞成分結合試薬が、同一の配列を有する2つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔192〕～〔218〕のいずれか一項に記載の方法。

[220] 前記細胞成分結合試薬が、異なるサンプルインデックス付加配列を有する2つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔192〕～〔218〕のいずれか一項に記載の方法。

[221] 前記複数のサンプルインデックス付加組成物の前記サンプルインデックス付加組成物が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと結合されない第2の細胞成分結合試薬を含む、前記〔192〕～〔220〕のいずれか一項に記載の方法。

[222] 前記細胞成分結合試薬及び前記第2の細胞成分結合試薬が、同一である、前記〔221〕に記載の方法。

[223] 前記細胞成分結合試薬が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔192〕～〔222〕のいずれか一項に記載の方法。

[224] 前記複数のバーコードのバーコードが、標的結合領域及び分子標識配列を含み、

前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの分子標識配列が、異なる分子標識配列を含む、前記〔192〕～〔223〕のいずれか一項に記載の方法。

[225] 前記バーコードが、細胞標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔224〕に記載の方法。

[226] 前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔224〕～〔225〕のいずれか一項に記載の方法。

[227] 前記複数のバーコードが、粒子に関連付けられる、前記〔224〕～〔226〕のいずれか一項に記載の方法。

[228] 前記複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードが、前記粒子上に固定されるか、前記粒子上に部分的に固定されるか、前記粒子に封入されるか、前記粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔227〕に記載の方法。

[229] 前記粒子が崩壊性である、前記〔227〕～〔228〕のいずれか一項に記載の方法。

[230] 前記粒子がビーズを含む、前記〔227〕～〔229〕のいずれか一項に記載の方法。

[231] 前記ビーズが、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテインAコンジュゲートビーズ、プロテインGコンジュゲートビーズ、プロテインA/Gコンジュゲートビーズ、プロテインLコンジュゲートビーズ、オリゴ(dT)コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記粒子が、ポリジメチルシロキサン(PDMS)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チタン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される材料を含む、前記[227]～[230]のいずれか一項に記載の方法。

[232] 前記粒子が、崩壊性ヒドロゲル粒子を含む、前記[227]～[231]のいずれか一項に記載の方法。

[233] 前記粒子が、検出可能な部分に関連付けられる、前記[227]～[232]のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

[234] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、検出可能な部分に関連付けられる、前記[227]～[232]のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

[235] 前記粒子の前記バーコードが、少なくとも1000、10000、又はそれらの組合せの異なる分子標識配列から選択される分子標識配列を含む、前記[227]～[234]のいずれか一項に記載の方法。

[236] 前記バーコードの前記分子標識配列が、ランダム配列を含む、前記[235]に記載の方法。

[237] 前記粒子が、少なくとも10000のバーコードを含む、前記[227]～[236]のいずれか一項に記載の方法。

[238] 前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程が、

前記複数のバーコードを、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと接触させて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされたバーコードを生成する工程と；

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記[192]～[237]のいずれか一項に記載の方法。

[239] 前記バーコードを伸長する工程が、DNAポリメラーゼを用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記[238]に記載の方法。

[240] 前記バーコードを伸長する工程が、逆転写酵素を用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記[238]に記載の方法。

[241] 複数のアンプリコンを生成するために、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記[238]～[240]のいずれか一項に記載の方法。

[242] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応(PCR)を用いて、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部を増幅する工程を含む、前記[241]に記載の方法。

[243] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記複数のアンプリコンのシーケンシングデータを取得する工程を含む、前記[241]～[242]のいずれか一項に記載の方法。

[244] 前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記分子標識配列の少なくとも

一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部をシーケンシングする工程を含む、前記〔243〕に記載の方法。

〔245〕前記少なくとも1つの細胞の前記サンプル起源を同定する工程が、前記少なくとも1つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記複数のバーコード付き標的のサンプル起源を同定する工程を含む、前記〔192〕～〔244〕のいずれか一項に記載の方法。

〔246〕前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔192〕～〔245〕のいずれか一項に記載の方法。

〔247〕前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の複数の標的にバーコードを付けて、複数のバーコード付き標的を生成する工程であって、前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記バーコード付き標的のシーケンシングデータを取得する工程と、を含む、前記〔192〕～〔246〕のいずれか一項に記載の方法。

〔248〕前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、

前記標的のコピーを、前記バーコードの標的結合領域と接触させる工程と；

前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的を逆転写して、複数の逆転写された標的を生成する工程と、を含む、前記〔247〕に記載の方法。

〔249〕前記複数のバーコード付き標的の前記シーケンシングデータを取得する工程の前に、前記バーコード付き標的を増幅して、複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔247〕～〔248〕のいずれか一項に記載の方法。

〔250〕前記バーコード付き標的を増幅して、前記複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（PCR）によって前記バーコード付き標的を増幅する工程を含む、前記〔249〕に記載の方法。

〔251〕前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的に確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔247〕～〔250〕のいずれか一項に記載の方法。

〔252〕シーケンシングコントロールのための方法であって、

複数の細胞の1つ以上の細胞を、複数のコントロール組成物のうちの1つのコントロール組成物と接触させる工程であって、

前記複数の細胞のうちの1つの細胞が、複数の標的及び複数のタンパク質標的を含み、前記複数のコントロール組成物の各々が、コントロールオリゴヌクレオチドに関連付けられたタンパク質結合試薬を含み、前記タンパク質結合試薬が、前記複数のタンパク質標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、前記コントロールオリゴヌクレオチドが、コントロールバーコード配列、及び前記複数のバーコードのうちの少なくとも1つの前記標的結合領域と実質的に相補的な配列を含む擬似標的領域を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記コントロールオリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記シーケンシングデータ中の前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドの少なくとも1つの特性を用いて、前記1つ以上の細胞の少なくとも1つの特性を決定する工程と、を含む、方法。

[253] シーケンシングコントロールのための方法であって、

複数の細胞の1つ以上の細胞を、複数のコントロール組成物のうちの1つのコントロール組成物と接触させる工程であって、

前記複数の細胞のうちの1つの細胞が、複数の標的及び複数の細胞成分標的を含み、

前記複数のコントロール組成物の各々が、コントロールオリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記複数の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、前記コントロールオリゴヌクレオチドが、コントロールバーコード配列、及び前記複数のバーコードのうちの少なくとも1つの前記標的結合領域と実質的に相補的な配列を含む擬似標的領域を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記コントロールオリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記シーケンシングデータ中の前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドの少なくとも1つの特性を用いて、前記1つ以上の細胞の少なくとも1つの特性を決定する工程と、を含む、方法。

[254] 前記細胞成分標的が、タンパク質標的を含む、前記[253]に記載の方法。

[255] シーケンシングコントロールのための方法であって、

複数の細胞の1つ以上の細胞を、複数のコントロール組成物のうちの1つのコントロール組成物と接触させる工程であって、

前記複数の細胞のうちの1つの細胞が、複数の標的及び複数の細胞成分標的を含み、

前記複数のコントロール組成物の各々が、コントロールオリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記複数の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、前記コントロールオリゴヌクレオチドが、コントロールバーコード配列、及び前記複数のバーコードのうちの少なくとも1つの前記標的結合領域と実質的に相補的な配列を含む擬似標的領域を含む工程と；

前記複数のコントロールオリゴヌクレオチドの少なくとも1つの特性を用いて、前記1つ以上の細胞の少なくとも1つの特性を決定する工程と、を含む、方法。

[256] 前記細胞成分標的が、タンパク質標的を含む、前記[255]に記載の方法。

[257] 複数のバーコードを用いて、前記コントロールオリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドを生成する工程であって、前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と、を含む、前記[255]～[256]のいずれか一項に記載の方法。

[258] 前記擬似標的領域が、ポリ(dA)領域を含む、前記[252]～[257]のいずれか一項に記載の方法。

[259] 前記コントロールバーコード配列が、6～60ヌクレオチド長である、前記[252]～[258]のいずれか一項に記載の方法。

[260] 前記コントロールバーコードオリゴヌクレオチドが、50～500ヌクレオチド長である、前記[252]～[259]のいずれか一項に記載の方法。

[2 6 1] 前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも 2、10、100、1000、又はそれらの組合せの前記コントロールバーコード配列が同一である、前記〔252〕～〔260〕のいずれか一項に記載の方法。

[2 6 2] 前記複数のコントロール粒子オリゴヌクレオチドの少なくとも 2、10、100、1000、又はそれらの組合せが、異なるコントロールバーコード配列を含む、前記〔252〕～〔261〕のいずれか一項に記載の方法。

[2 6 3] 前記 1 つ以上の細胞の前記少なくとも 1 つの特性を決定する工程が、

前記シーケンシングデータ中の前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドに関連付けられた識別可能な配列を有する細胞標識配列の数を決定する工程と；

前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドに関連付けられた識別可能な配列を有する細胞標識配列の数を使用して前記 1 つ以上の細胞の数を決定する工程と、を含む、前記〔252〕～〔262〕のいずれか一項に記載の方法。

[2 6 4] 決定された前記 1 つ以上の細胞の数に基づいて单一細胞捕捉効率を決定する工程を含む、前記〔263〕に記載の方法。

[2 6 5] 決定された前記 1 つ以上の細胞の数と前記複数の細胞の数の比に基づいて单一細胞捕捉効率を決定する工程を含む、前記〔263〕に記載の方法。

[2 6 6] 前記 1 つ以上の細胞の前記少なくとも 1 つの特性を決定する工程が、

前記シーケンシングデータにおける各細胞標識について、前記細胞標識及び前記コントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数を決定する工程と；

前記細胞標識及び前記コントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数を使用して前記 1 つ以上の細胞の数を決定する工程と、を含む、前記〔252〕～〔265〕のいずれか一項に記載の方法。

[2 6 7] 前記細胞標識及び前記コントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数を決定する工程が、

前記シーケンシングデータにおける各細胞標識について、前記細胞標識及び前記コントロールバーコード配列に関連付けられた最多数の識別可能な配列を有する分子標識配列の数を決定する工程を含む、前記〔266〕に記載の方法。

[2 6 8] 前記細胞標識及び前記コントロールバーコード配列に関連付けられた識別可能な配列を有する分子標識配列の数を使用して前記 1 つ以上の細胞の数を決定する工程が、

最多数の識別可能な配列を有する分子標識配列の数に関連付けられた前記シーケンシングデータにおいて、細胞標識の数と最多数の識別可能な配列を有する分子標識配列の数のプロットを作製する工程と；

前記 1 つ以上の細胞の数として前記プロットにおけるカットオフを決定する工程と、を含む、前記〔267〕に記載の方法。

[2 6 9] 前記コントロールオリゴヌクレオチドが、前記複数の細胞のいずれかのゲノム配列に対して相同でなく、又は前記コントロールオリゴヌクレオチドが、1 つの種のゲノム配列に対して相同である、前記〔252〕～〔268〕のいずれか一項に記載の方法。

[2 7 0] 前記種が、非哺乳動物種である、前記〔269〕に記載の方法。

[2 7 1] 前記コントロールオリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程の前に、前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬から前記コントロールオリゴヌクレオチドを放出する工程を含む、前記〔252〕～〔270〕のいずれか一項に記載の方法。

[2 7 2] 前記複数のコントロール組成物の未結合のコントロール組成物を除去する工程を含む、前記〔252〕～〔271〕のいずれか一項に記載の方法。

[2 7 3] 前記未結合のコントロール組成物を除去する工程が、前記複数の細胞の前記 1 つ以上の細胞を、洗浄緩衝液で洗浄する工程を含む、前記〔272〕に記載の方法。

[2 7 4] 前記未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程が、フローサイトメトリーを用いて、前記コントロール組成物の、少なくとも 1 つのタンパク質結合試薬、又は少なくとも 1 つの細胞成分結合試薬に結合された細胞を選択する工程を含む、前記〔273〕に記載の方法。

[275] 前記複数のタンパク質標的の少なくとも 1 つ、又は前記複数の細胞成分標的の少なくとも 1 つが、細胞表面上で発現される、前記 [252] ~ [274] のいずれか一項に記載の方法。

[276] 前記複数のタンパク質標的の少なくとも 1 つ、又は前記複数の細胞成分標的の少なくとも 1 つが、細胞表面タンパク質、細胞マーカー、B 細胞レセプター、T 細胞レセプター、主要組織適合性複合体、腫瘍抗原、レセプター、インテグリン、又はそれらの任意の組合せを含む、前記 [252] ~ [275] のいずれか一項に記載の方法。

[277] 前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、抗体、四量体、アブタマー、タンパク質骨格、浸潤、又はそれらの組合せを含む、前記 [252] ~ [276] のいずれか一項に記載の方法。

[278] 前記タンパク質結合試薬のタンパク質標的が、10 ~ 100 の異なるタンパク質標的を含む群から選択され、又は前記細胞成分結合試薬の細胞成分標的が、10 ~ 100 の異なる細胞成分標的を含む群から選択される、前記 [252] ~ [277] のいずれか一項に記載の方法。

[279] 前記タンパク質結合試薬のタンパク質標的、又は前記細胞成分結合試薬の細胞成分標的が、炭水化物、脂質、タンパク質、細胞外タンパク質、細胞表面タンパク質、細胞マーカー、B 細胞レセプター、T 細胞レセプター、主要組織適合性複合体、腫瘍抗原、レセプター、インテグリン、細胞内タンパク質、又はそれらの任意の組合せを含む、前記 [278] に記載の方法。

[280] 前記コントロールオリゴヌクレオチドが、リンクを介して前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬に結合される、前記 [252] ~ [279] のいずれか一項に記載の方法。

[281] 前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、同一のコントロールバーコード配列を有する 2 つ以上のコントロールオリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記 [252] ~ [280] のいずれか一項に記載の方法。

[282] 前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、異なる同一のコントロールバーコード配列を有する 2 つ以上のコントロールオリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記 [252] ~ [281] のいずれか一項に記載の方法。

[283] 前記複数のコントロール組成物のタンパク質結合試薬、又は第 2 の細胞成分結合試薬が、前記コントロールオリゴヌクレオチドに関連付けられない、前記 [252] ~ [282] のいずれか一項に記載の方法。

[284] 前記タンパク質結合試薬及び前記第 2 のタンパク質結合試薬が、同一であるか、又は前記細胞成分結合試薬及び前記第 2 の細胞成分結合試薬が、同一である、前記 [283] に記載の方法。

[285] 前記バーコードが、ユニバーサルプライマーのための結合部位を含む、前記 [252] ~ [284] のいずれか一項に記載の方法。

[286] 前記標的結合領域が、ポリ (dT) 領域を含む、前記 [252] ~ [285] のいずれか一項に記載の方法。

[287] 前記複数のバーコードが、バーコーディング粒子に関連付けられる、前記 [252] ~ [286] のいずれか一項に記載の方法。

[288] 前記複数のバーコードの少なくとも 1 つのバーコードが、前記バーコーディング粒子上に固定されるか、前記バーコーディング粒子上に部分的に固定されるか、前記バーコーディング粒子に封入されるか、前記バーコーディング粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記 [287] に記載の方法。

[289] 前記バーコーディング粒子が崩壊性である、前記 [287] ~ [288] のいずれか一項に記載の方法。

[290] 前記バーコーディング粒子が、バーコーディングビーズを含む、前記 [287] ~ [289] のいずれか一項に記載の方法。

[291] 前記バーコーディング粒子が、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテイン A コンジュゲー

トビーズ、プロテイン G コンジュゲートビーズ、プロテイン A / G コンジュゲートビーズ、プロテイン L コンジュゲートビーズ、オリゴ (d T) コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記バーコーディング粒子が、ポリジメチルシロキサン (P D M S)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チタン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、又はそれらの任意の組合せの材料を含む、前記 [287] ~ [290] のいずれか一項に記載の方法。

[292] 前記バーコーディング粒子が、崩壊性ヒドロゲル粒子を含む、前記 [287] ~ [291] のいずれか一項に記載の方法。

[293] 前記バーコーディング粒子が、光学的部分に関連付けられる、前記 [287] ~ [292] のいずれか一項に記載の方法。

[294] 前記コントロールオリゴヌクレオチドが、光学的部分に関連付けられる、前記 [287] ~ [293] のいずれか一項に記載のコントロール粒子組成物。

[295] 前記バーコーディング粒子の前記バーコードが、少なくとも 1000、10000、又はそれらの組合せの異なる分子標識配列から選択される分子標識配列を含む、前記 [287] ~ [294] のいずれか一項に記載の方法。

[296] 前記バーコードの前記分子標識配列が、ランダム配列を含む、前記 [287] ~ [295] のいずれか一項に記載の方法。

[297] 前記バーコーディング粒子が、少なくとも 10000 のバーコードを含む、前記 [287] ~ [296] のいずれか一項に記載の方法。

[298] 前記コントロールオリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記コントロールオリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数の確率バーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記 [252] ~ [297] のいずれか一項に記載の方法。

[299] 前記複数のバーコードを用いて、前記複数のコントロールオリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程が、

前記複数のバーコードを、前記複数のコントロール組成物のコントロールオリゴヌクレオチドと接触させて、前記コントロールオリゴヌクレオチドにハイブリダイズされたバーコードを生成する工程と；

前記コントロールオリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記確率バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記 [252] ~ [298] のいずれか一項に記載の方法。

[300] 前記バーコードを伸長する工程が、D N A ポリメラーゼ、逆転写酵素、又はそれらの組合せを用いて、前記バーコードを伸長する工程を含む、前記 [299] に記載の方法。

[301] 複数のアンプリコンを生成するために、前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記 [252] ~ [300] のいずれか一項に記載の方法。

[302] 前記複数のバーコード付きコントロールオリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応 (P C R) を用いて、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記コントロールオリゴヌクレオチドの少なくとも一部を増幅する工程を含む、前記 [301] に記載の方法。

[303] 前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記複数のアンプリコンのシーケンシングデータを取得する工程を含む、前記 [301] ~ [302] のいずれか一項に記載の方法。

[304] 前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記コントロールオリゴヌクレオチドの少なくとも一部をシーケンシングする工程を含む、前記 [303] に記載の方法。

[3 0 5] 細胞同定のための方法であって、

第 1 の複数の細胞及び第 2 の複数の細胞を、それぞれ、複数のサンプルインデックス付加組成物の 2 つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記第 1 の複数の細胞の各々及び前記第 2 の複数の細胞の各々が、1 つ以上のタンパク質標的を含み、前記 2 つのサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられたタンパク質結合試薬を含み、前記タンパク質結合試薬が、1 つ以上のタンパク質標的の少なくとも 1 つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記 2 つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも 2 つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも 2 つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

得られた前記シーケンシングデータ中の 2 つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた 1 つ以上の細胞標識配列を同定する工程と；

得られた前記シーケンシングデータから、2 つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた前記 1 つ以上の細胞標識配列に関連付けられた前記シーケンシングデータを除去する工程と、を含む、方法。

[3 0 6] マルチプレットの同定のための方法であって、

第 1 の複数の細胞及び第 2 の複数の細胞を、それぞれ、複数のサンプルインデックス付加組成物の 2 つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記第 1 の複数の細胞の各々及び前記第 2 の複数の細胞の各々が、1 つ以上のタンパク質標的を含み、前記 2 つのサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられたタンパク質結合試薬を含み、前記タンパク質結合試薬が、1 つ以上のタンパク質標的の少なくとも 1 つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記 2 つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも 2 つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも 2 つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

得られた前記シーケンシングデータ中の 2 つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた 1 つ以上の多細胞標識配列を同定する工程と、を含む、方法。

[3 0 7] 細胞同定のための方法であって、

第 1 の複数の細胞及び第 2 の複数の細胞を、それぞれ、複数のサンプルインデックス付加組成物の 2 つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記第1の複数の細胞の各々及び前記第2の複数の細胞の各々が、1つ以上の細胞成分標的を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

得られた前記シーケンシングデータ中の2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた1つ以上の細胞標識配列を同定する工程と；

得られた前記シーケンシングデータから、2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた前記1つ以上の細胞標識配列に関連付けられた前記シーケンシングデータを除去する工程と、を含む、方法。

[308]マルチプレットの同定のための方法であって、

第1の複数の細胞及び第2の複数の細胞を、それぞれ、複数のサンプルインデックス付加組成物の2つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記第1の複数の細胞の各々及び前記第2の複数の細胞の各々が、1つ以上の細胞成分標的を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記シーケンシングデータ中の2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた1つ以上の多細胞標識配列を同定する工程と、を含む、方法。

[309]前記細胞成分結合試薬が、タンパク質結合試薬を含み、前記タンパク質結合試薬が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられ、前記1つ以上の細胞成分標的が、1つ以上のタンパク質標的を含む、前記[307]～[308]のいずれか一項に記載の方法。

[310]前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞を、それぞれ前記2つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程が、

前記第1の複数の細胞を、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の第1のサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程と；

前記第1の複数の細胞を、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の第2のサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程と、を含む、前記〔305〕～〔309〕のいずれか一項に記載の方法。

〔311〕サンプル同定のための方法であって、

第1の複数の細胞及び第2の複数の細胞の各々に由来する1つ以上の細胞を、それぞれ複数の2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記第1の複数の細胞の各々及び前記第2の複数の細胞の各々が、1つ以上の細胞成分標的を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた1つ以上の細胞を同定する工程と、を含む、方法。

〔312〕マルチプレットの同定のための方法であって、

第1の複数の細胞及び第2の複数の細胞の各々に由来する1つ以上の細胞を、それぞれ複数の2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記第1の複数の細胞の各々及び前記第2の複数の細胞の各々が、1つ以上の細胞成分標的を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

多細胞として2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた1つ以上の細胞を同定する工程と、を含む、方法。

〔313〕前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞を、それぞれ前記2つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程が、

前記第1の複数の細胞を、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の第1のサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程と；

前記第1の複数の細胞を、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の第2のサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程と、を含む、前記〔305〕～〔312〕のいずれか一項に記載の方法。

〔314〕2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた前記1つ以上の細胞を同定する工程が、

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、

前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列、分子標識配列、及び標的結合領域を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシ

ンゲデータを取得する工程と；

得られた前記シーケンシングデータ中の2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた1つ以上の細胞標識配列を同定する工程と、を含む、前記〔305〕～〔313〕のいずれか一項に記載の方法。

〔315〕得られた前記シーケンシングデータから、2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた前記1つ以上の細胞標識配列に関連付けられた前記シーケンシングデータを除去する工程を含む、前記〔314〕に記載の方法。

〔316〕その後の分析から、前記2つ以上のサンプルインデックス付加配列に各々が関連付けられた前記1つ以上の細胞標識配列に関連付けられた前記シーケンシングデータを除外する工程を含む、前記〔314〕に記載の方法。

〔317〕前記サンプルインデックス付加配列が、6～60ヌクレオチド長である、前記〔305〕～〔316〕のいずれか一項に記載の方法。

〔318〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、50～500ヌクレオチド長である、前記〔305〕～〔317〕のいずれか一項に記載の方法。

〔319〕前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも10、100、1000、又はそれらの組合せのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む、前記〔305〕～〔318〕のいずれか一項に記載の方法。

〔320〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、抗体、四量体、アブタマー、タンパク質骨格、インテグリン、又はそれらの組合せを含む、前記〔305〕～〔319〕のいずれか一項に記載の方法。

〔321〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬に結合される、前記〔305〕～〔320〕のいずれか一項に記載の方法。

〔322〕前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞の少なくとも1つが、単一細胞を含む、前記〔305〕～〔321〕のいずれか一項に記載の方法。

〔323〕前記少なくとも1つ以上のタンパク質標的、又は前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つが、細胞表面上にある、前記〔305〕～〔322〕のいずれか一項に記載の方法。

〔324〕前記2つのサンプルインデックス付加組成物の未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程を含む、前記〔305〕～〔323〕のいずれか一項に記載の方法。

〔325〕前記未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程が、前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞の細胞を、洗浄緩衝液で洗浄する工程を含む、前記〔324〕に記載の方法。

〔326〕前記未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程が、フローサイトメトリーを用いて、前記2つのサンプルインデックス付加組成物の、少なくとも1つのタンパク質結合試薬、又は少なくとも1つの細胞成分結合試薬に結合された細胞を選択する工程を含む、前記〔324〕に記載の方法。

〔327〕前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞の細胞を溶解させる工程を含む、前記〔305〕～〔326〕のいずれか一項に記載の方法。

〔328〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬から切り離し可能又は切り離し不可能であるように構成される、前記〔305〕～〔327〕のいずれか一項に記載の方法。

〔329〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬から前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔305〕～〔328〕のいずれか一項に記載の方法。

〔330〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程が、UV光切断、化学処理、加熱、酵素処理、又はそれらの任意の組合せにより、前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬から前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチ

ドを切り離す工程を含む、前記〔329〕に記載の方法。

〔331〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記1つ以上の細胞のいずれかのゲノム配列に対して相違でない、前記〔305〕～〔330〕のいずれか一項に記載の方法。

〔332〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、1つの種のゲノム配列に対して相違である、前記〔305〕～〔331〕のいずれか一項に記載の方法。

〔333〕前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞の少なくとも1つが、腫瘍細胞又は非腫瘍細胞を含む、前記〔305〕～〔332〕のいずれか一項に記載の方法。

〔334〕前記第1の複数の細胞及び前記第2の複数の細胞の少なくとも1つが、哺乳動物細胞、細菌細胞、ウイルス細胞、酵母細胞、真菌細胞、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔305〕～〔333〕のいずれか一項に記載の方法。

〔335〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードの捕捉配列に相補的な配列を含む、前記〔305〕～〔334〕のいずれか一項に記載の方法。

〔336〕前記バーコードが、前記捕捉配列を含む標的結合領域を含む、前記〔335〕に記載の方法。

〔337〕前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔336〕に記載の方法。

〔338〕前記バーコードの前記捕捉配列に相補的な前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記配列が、ポリ(dA)領域を含む、前記〔305〕～〔337〕のいずれか一項に記載の方法。

〔339〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、分子標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はその両方を含む、前記〔305〕～〔338〕のいずれか一項に記載の方法。

〔340〕前記タンパク質標的、又は前記細胞成分標的が、炭水化物、脂質、タンパク質、細胞外タンパク質、細胞表面タンパク質、細胞マーカー、B細胞レセプター、T細胞レセプター、主要組織適合性複合体、腫瘍抗原、レセプター、細胞内タンパク質又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔305〕～〔339〕のいずれか一項に記載の方法。

〔341〕前記タンパク質標的が、10～100の異なるタンパク質標的を含む群から選択され、又は前記細胞成分標的が、10～100の異なる細胞成分標的を含む群から選択される、前記〔305〕～〔340〕のいずれか一項に記載の方法。

〔342〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、同一の配列を有する2つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔305〕～〔341〕のいずれか一項に記載の方法。

〔343〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、異なるサンプルインデックス付加配列を有する2つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔305〕～〔341〕のいずれか一項に記載の方法。

〔344〕前記複数のサンプルインデックス付加組成物の前記サンプルインデックス付加組成物が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと結合されない、第2のタンパク質結合試薬、又は第2の細胞成分結合試薬を含む、前記〔305〕～〔343〕のいずれか一項に記載の方法。

〔345〕前記タンパク質結合試薬及び前記第2のタンパク質結合試薬が同一であるか、又は前記細胞成分結合試薬及び前記第2の細胞成分結合試薬が同一である、前記〔344〕に記載の方法。

〔346〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔305〕～〔345〕のいずれか一項に記載の方法。

〔347〕前記複数のバーコードのバーコードが、標的結合領域及び分子標識配列を含み、

前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの分子標識配列が、異なる分子標識配列を含む、前記〔305〕～〔346〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 4 8] 前記バーコードが、細胞標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔 3 4 7 〕に記載の方法。

[3 4 9] 前記標的結合領域が、ポリ(d T)領域を含む、前記〔 3 4 7 〕～〔 3 4 8 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 0] 前記複数のバーコードが、粒子に関連付けられる、前記〔 3 4 7 〕～〔 3 4 9 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 1] 前記複数のバーコードの少なくとも 1 つのバーコードが、前記粒子上に固定されるか、前記粒子上に部分的に固定されるか、前記粒子に封入されるか、前記粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔 3 5 0 〕に記載の方法。

[3 5 2] 前記粒子が崩壊性である、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 1 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 3] 前記粒子がビーズを含む、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 2 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 4] 前記粒子が、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテイン A コンジュゲートビーズ、プロテイン G コンジュゲートビーズ、プロテイン A / G コンジュゲートビーズ、プロテイン L コンジュゲートビーズ、オリゴ(d T)コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記粒子が、ポリジメチルシロキサン(P D M S)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チタン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される材料を含む、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 3 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 5] 前記粒子が、崩壊性ヒドロゲル粒子を含む、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 4 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 6] 前記粒子が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 5 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 7] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 6 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 8] 前記粒子の前記バーコードが、少なくとも 1 0 0 0 、 1 0 0 0 0 、又はそれらの組合せの異なる分子標識配列から選択される分子標識配列を含む、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 7 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 5 9] 前記バーコードの前記分子標識配列が、ランダム配列を含む、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 8 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 6 0] 前記粒子が、少なくとも 1 0 0 0 0 のバーコードを含む、前記〔 3 5 0 〕～〔 3 5 9 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 6 1] 前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程が、

前記複数のバーコードを、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと接触させて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされたバーコードを生成する工程と；

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記〔 3 0 5 〕～〔 3 6 0 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 6 2] 前記バーコードを伸長する工程が、D N A ポリメラーゼを用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔 3 6 1 〕に記載の方法。

[3 6 3] 前記バーコードを伸長する工程が、逆転写酵素を用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成

する工程を含む、前記〔361〕に記載の方法。

〔364〕複数のアンプリコンを生成するために、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記〔361〕～〔363〕のいずれか一項に記載の方法。

〔365〕前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（PCR）を用いて、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部を増幅する工程を含む、前記〔364〕に記載の方法。

〔366〕前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記複数のアンプリコンのシーケンシングデータを取得する工程を含む、前記〔364〕～〔365〕のいずれか一項に記載の方法。

〔367〕前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部をシーケンシングする工程を含む、前記〔366〕に記載の方法。

〔368〕前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔305〕～〔367〕のいずれか一項に記載の方法。

〔369〕前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の複数の標的にバーコードを付けて、複数のバーコード付き標的を生成する工程であって、前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記バーコード付き標的のシーケンシングデータを取得する工程と、を含む、前記〔305〕～〔368〕のいずれか一項に記載の方法。

〔370〕前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、

前記標的のコピーを、前記バーコードの標的結合領域と接触させる工程と；

前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的を逆転写して、複数の逆転写された標的を生成する工程と、を含む、前記〔369〕に記載の方法。

〔371〕前記複数のバーコード付き標的の前記シーケンシングデータを取得する工程の前に、前記バーコード付き標的を増幅して、複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔369〕～〔370〕のいずれか一項に記載の方法。

〔372〕前記バーコード付き標的を増幅して、前記複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（PCR）によって前記バーコード付き標的を増幅する工程を含む、前記〔371〕に記載の方法。

〔373〕前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的に確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔369〕～〔372〕のいずれか一項に記載の方法。

〔374〕タンパク質間相互作用を決定するための方法であって、

細胞を、相互作用決定組成物の第1の対と接触させる工程であって、

前記細胞が、第1のタンパク質標的及び第2のタンパク質標的を含み、

相互作用決定組成物の前記第1の対の各々が、相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられたタンパク質結合試薬を含み、相互作用決定組成物の前記第1の対の一方の前記タンパク質結合試薬が、前記第1のタンパク質標的に特異的に結合することが可能であり、相互作用決定組成物の前記第1の対の他方の前記タンパク質結合試薬が、前記第2のタンパク質標的に特異的に結合することが可能であり、

前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、相互作用決定配列及び架橋オリゴヌクレオチ

ドハイブリダイゼーション領域を含み、相互作用決定組成物の前記第1の対の前記相互作用決定配列が、異なる配列を含む工程と；

架橋オリゴヌクレオチドを用いて、相互作用決定組成物の前記第1の対の前記相互作用決定オリゴヌクレオチドをライゲートして、ライゲートされた相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、前記架橋オリゴヌクレオチドが、相互作用決定組成物の前記第1の対の前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域に特異的に結合することが可能な2つのハイブリダイゼーション領域を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記ライゲートされた相互作用決定オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する方法であって、

前記複数のバーコードの各々が、バーコード配列及び捕捉配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記得られたシーケンシングデータ中の相互作用決定組成物の前記第1の対の前記相互作用決定配列の関連付けに基づいて、前記第1及び第2のタンパク質標的間の相互作用を決定する工程と、を含む、方法。

[375] 細胞成分標的間の相互作用を決定するための方法であって、

細胞を、相互作用決定組成物の第1の対と接触させる工程であって、

前記細胞が、第1の細胞成分標的及び第2の細胞成分標的を含み、

相互作用決定組成物の前記第1の対の各々が、相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、相互作用決定組成物の前記第1の対の一方の前記細胞成分結合試薬が、前記第1の細胞成分標的に特異的に結合することが可能であり、相互作用決定組成物の前記第1の対の他方の前記細胞成分結合試薬が、前記第2の細胞成分標的に特異的に結合することが可能であり、

前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、相互作用決定配列及び架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域を含み、相互作用決定組成物の前記第1の対の前記相互作用決定配列が、異なる配列を含む工程と；

架橋オリゴヌクレオチドを用いて、相互作用決定組成物の前記第1の対の前記相互作用決定オリゴヌクレオチドをライゲートして、ライゲートされた相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程であって、前記架橋オリゴヌクレオチドが、相互作用決定組成物の前記第1の対の前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域に特異的に結合することが可能な2つのハイブリダイゼーション領域を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記ライゲートされた相互作用決定オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する方法であって、

前記複数のバーコードの各々が、バーコード配列及び捕捉配列を含む工程と；

前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記得られたシーケンシングデータ中の相互作用決定組成物の前記第1の対の前記相互作用決定配列の関連付けに基づいて、前記第1及び第2の細胞成分標的間の相互作用を決定する工程と、を含む、方法。

[376] 前記2つの細胞成分結合試薬の少なくとも1つが、タンパク質結合試薬を含み、前記タンパク質結合試薬が、前記2つの相互作用決定オリゴヌクレオチドの1つに関連付けられ、前記1つ以上の細胞成分標的が、少なくとも1つのタンパク質標的を含む、前記[375]に記載の方法。

[377] 前記細胞を、相互作用決定組成物の前記第1の対と接触させる工程が、

前記細胞を、相互作用決定組成物の前記第1の対の各々と連続的に又は同時に接触させる工程を含む、前記[374]～[376]のいずれか一項に記載の方法。

[378] 前記第1のタンパク質標的が、前記第2のタンパク質標的と同じである、前記[374]～[377]のいずれか一項に記載の方法。

[3 7 9] 前記第 1 のタンパク質標的が、前記第 2 のタンパク質標的と異なる、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 7 8 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 8 0] 前記相互作用決定配列が、6～60ヌクレオチド長である、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 7 9 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 8 1] 前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、50～500ヌクレオチド長である、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 8 0 〕のいずれか一項に記載のキット。

[3 8 2] 前記細胞を、相互作用決定組成物の第 2 の対と接触させる工程を含み、

前記細胞が、第 3 のタンパク質標的及び第 4 のタンパク質標的を含み、

相互作用決定組成物の前記第 2 の対の各々が、相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられたタンパク質結合試薬を含み、相互作用決定組成物の前記第 2 の対の一方の前記タンパク質結合試薬が、前記第 3 のタンパク質標的に特異的に結合することが可能であり、相互作用決定組成物の前記第 2 の対の他方の前記タンパク質結合試薬が、前記第 4 のタンパク質標的に特異的に結合することが可能である、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 8 1 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 8 3] 前記第 3 及び第 4 のタンパク質標的の少なくとも 1 つが、前記第 1 及び第 2 のタンパク質標的の 1 つと異なる、前記〔 3 8 2 〕に記載の方法。

[3 8 4] 前記第 3 及び第 4 のタンパク質標的の少なくとも 1 つ及び前記第 1 及び第 2 のタンパク質標的の少なくとも 1 つが、同一である、前記〔 3 8 2 〕に記載の方法。

[3 8 5] 前記細胞を、相互作用決定組成物の 3 つ以上の対と接触させる工程を含む、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 8 4 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 8 6] 相互作用決定組成物の前記複数の対の少なくとも 10、100、1000、又はそれらの組合せの相互作用決定組成物の前記相互作用決定配列が、異なる配列を含む、前記〔 3 8 5 〕に記載の方法。

[3 8 7] 相互作用決定組成物の前記第 1 の対の前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域が、異なる配列を含む、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 8 6 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 8 8] 前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域の少なくとも 1 つが、前記架橋オリゴヌクレオチドの前記 2 つのハイブリダイゼーション領域の少なくとも 1 つに相補的である、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 8 7 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 8 9] 前記架橋オリゴヌクレオチドを用いて、相互作用決定組成物の前記第 1 の対の前記相互作用決定オリゴヌクレオチドをライゲートする工程が、

前記架橋オリゴヌクレオチドの第 1 のハイブリダイゼーション領域を、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドの前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域の第 1 の架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域とハイブリダイズする工程と；

前記架橋オリゴヌクレオチドの第 2 のハイブリダイゼーション領域を、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドの前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域の第 2 の架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域とハイブリダイズする工程と；

前記架橋オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記相互作用決定オリゴヌクレオチドをライゲートして、ライゲートされた相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 8 8 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 9 0] 前記タンパク質結合試薬が、抗体、四量体、アプタマー、タンパク質骨格、インテグリン、又はそれらの組合せを含む、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 8 9 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 9 1] 前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記タンパク質結合試薬に結合される、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 9 0 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 9 2] 前記 1 つ以上のタンパク質標的の前記少なくとも 1 つが、細胞表面上にある、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 9 1 〕のいずれか一項に記載の方法。

[3 9 3] 前記細胞を、相互作用決定組成物の前記第 1 の対と接触させる工程の前に、前記細胞を固定する工程を含む、前記〔 3 7 4 〕～〔 3 9 2 〕のいずれか一項に記載の方法

。

[394] 相互作用決定組成物の前記第1の対の未結合の相互作用決定組成物を除去する工程を含む、前記〔374〕～〔393〕のいずれか一項に記載の方法。

[395] 前記未結合の相互作用決定組成物を除去する工程が、前記細胞を洗浄緩衝液で洗浄する工程を含む、前記〔394〕に記載の方法。

[396] 前記未結合の相互作用決定組成物を除去する工程が、フローサイトメトリーを用いて、前記細胞を選択する工程を含む、前記〔394〕に記載の方法。

[397] 前記細胞を溶解させる工程を含む、前記〔374〕～〔396〕のいずれか一項に記載の方法。

[398] 前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、前記タンパク質結合試薬から切り離し可能又は切り離し不可能であるように構成される、前記〔374〕～〔397〕のいずれか一項に記載の方法。

[399] 前記タンパク質結合試薬から前記相互作用決定オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔374〕～〔398〕のいずれか一項に記載の方法。

[400] 前記相互作用決定オリゴヌクレオチドを切り離す工程が、UV光切断、化学処理、加熱、酵素処理、又はそれらの任意の組合せにより前記タンパク質結合試薬から前記相互作用決定オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔399〕に記載の方法。

[401] 前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、前記細胞のゲノム配列に対して相違なく、又は前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、1つの種のゲノム配列に対して相違ある、前記〔374〕～〔400〕のいずれか一項に記載の方法。

[402] 前記種が、非哺乳動物種である、前記〔401〕に記載の方法。

[403] 前記細胞が、腫瘍細胞又は非腫瘍細胞である、前記〔374〕～〔402〕のいずれか一項に記載の方法。

[404] 前記細胞が、哺乳動物細胞、細菌細胞、ウイルス細胞、酵母細胞、真菌細胞、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔374〕～〔403〕のいずれか一項に記載の方法。

[405] 2つ以上の細胞を、相互作用決定組成物の前記第1の対と接触させる工程を含み、前記2つ以上の細胞の各々が、前記第1及び第2のタンパク質標的を含む、前記〔374〕～〔404〕のいずれか一項に記載の方法。

[406] 前記2つ以上の細胞の少なくとも1つが、単一細胞を含む、前記〔405〕に記載の方法。

[407] 前記バーコードが、細胞標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔374〕～〔406〕のいずれか一項に記載の方法。

[408] 前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む、前記〔407〕に記載の方法。

[409] 相互作用決定組成物の前記第1の対の一方の前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、前記捕捉配列に相補的な配列を含む、前記〔374〕～〔408〕のいずれか一項に記載の方法。

[410] 前記捕捉配列が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔409〕に記載の方法。

[411] 前記捕捉配列に相補的な前記相互作用決定オリゴヌクレオチドの前記配列が、ポリ(dA)領域を含む、前記〔409〕～〔410〕のいずれか一項に記載の方法。

[412] 前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、第2のバーコード配列を含む、前記〔374〕～〔411〕のいずれか一項に記載の方法。

[413] 相互作用同定組成物の前記第1の対の他方の前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、ユニバーサルプライマーのための結合部位を含む、前記〔374〕～〔412〕のいずれか一項に記載の方法。

[414] 前記タンパク質標的が、細胞外タンパク質、細胞内タンパク質、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔374〕～〔413〕のいずれか一項に記載の方法。

[415] 前記タンパク質標的が、細胞表面タンパク質、細胞マーカー、B細胞レセプター、T細胞レセプター、主要組織適合性複合体、腫瘍抗原、レセプター、インテグリン、

又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔414〕に記載の方法。

〔416〕前記タンパク質標的が、脂質、炭水化物、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔374〕～〔415〕のいずれか一項に記載の方法。

〔417〕前記タンパク質標的が、10～100の異なるタンパク質標的を含む群から選択される、前記〔374〕～〔416〕のいずれか一項に記載の方法。

〔418〕前記タンパク質結合試薬が、同一の配列を有する2つ以上の相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔374〕～〔417〕のいずれか一項に記載の方法。

〔419〕前記タンパク質結合試薬が、異なる相互作用決定配列を有する2つ以上の相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔374〕～〔418〕のいずれか一項に記載の方法。

〔420〕前記複数の相互作用決定組成物の1つが、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられない第2のタンパク質結合試薬を含む、前記〔374〕～〔419〕のいずれか一項に記載の方法。

〔421〕前記タンパク質結合試薬及び前記第2のタンパク質結合試薬が、同一である、前記〔420〕に記載の方法。

〔422〕前記タンパク質結合試薬が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔374〕～〔421〕のいずれか一項に記載の方法。

〔423〕前記複数のバーコードが、粒子に関連付けられる、前記〔374〕～〔422〕のいずれか一項に記載の方法。

〔424〕前記複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードが、前記粒子上に固定されるか、前記粒子上に部分的に固定されるか、前記粒子に封入されるか、前記粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔423〕に記載の方法。

〔425〕前記粒子が崩壊性である、前記〔423〕～〔424〕のいずれか一項に記載の方法。

〔426〕前記粒子がビーズを含む、前記〔423〕～〔425〕のいずれか一項に記載の方法。

〔427〕前記粒子が、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテインAコンジュゲートビーズ、プロテインGコンジュゲートビーズ、プロテインA/Gコンジュゲートビーズ、プロテインLコンジュゲートビーズ、オリゴ(dT)コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記粒子が、ポリジメチルシロキサン(PDMS)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チタン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される材料を含む、前記〔423〕～〔426〕のいずれか一項に記載の方法。

〔428〕前記粒子が、崩壊性ヒドロゲル粒子を含む、前記〔423〕～〔427〕のいずれか一項に記載の方法。

〔429〕前記粒子が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔423〕～〔428〕のいずれか一項に記載の方法。

〔430〕前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔423〕～〔429〕のいずれか一項に記載の方法。

〔431〕前記粒子の前記バーコードが、少なくとも1000、10000、又はそれらの組合せの異なるバーコード配列から選択されるバーコード配列を含む、前記〔423〕～〔430〕のいずれか一項に記載の方法。

〔432〕前記バーコードの前記バーコード配列が、ランダム配列を含む、前記〔374〕～〔431〕のいずれか一項に記載の方法。

〔433〕前記粒子が、少なくとも10000のバーコードを含む、前記〔423〕～〔432〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 3 4] 前記複数のバーコードを用いて、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程が、

前記複数のバーコードを、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドと接触させて、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされたバーコードを生成する工程と；

前記相互作用決定オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記〔374〕～〔433〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 3 5] 前記バーコードを伸長する工程が、DNAポリメラーゼを用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔434〕に記載の方法。

[4 3 6] 前記バーコードを伸長する工程が、逆転写酵素を用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔434〕に記載の方法。

[4 3 7] 前記バーコードを伸長する工程が、モロニーマウス白血病ウイルス(M-MLV)逆転写酵素又はTaq DNAポリメラーゼを用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔434〕に記載の方法。

[4 3 8] 前記バーコードを伸長する工程が、前記架橋オリゴヌクレオチドを、前記ライゲートされた相互作用決定オリゴヌクレオチドから移動させる工程を含む、前記〔434〕～〔437〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 3 9] 複数のアンプリコンを生成するために、前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記〔434〕～〔438〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 4 0] 前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応(PCR)を用いて、前記バーコード配列の少なくとも一部及び前記相互作用決定オリゴヌクレオチドの少なくとも一部を増幅する工程を含む、前記〔439〕に記載の方法。

[4 4 1] 前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドの前記シークエンシングデータを取得する工程が、前記複数のアンプリコンのシークエンシングデータを取得する工程を含む、前記〔439〕～〔440〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 4 2] 前記シークエンシングデータを取得する工程が、前記バーコード配列の少なくとも一部及び前記相互作用決定オリゴヌクレオチドの少なくとも一部をシークエンシングする工程を含む、前記〔441〕に記載の方法。

[4 4 3] 前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドのシークエンシングデータを取得する工程が、前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドの部分的及び／又は完全な配列を取得する工程を含む、前記〔374〕～〔442〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 4 4] 前記複数のバーコードが、複数の確率バーコードを含み、

前記複数の確率バーコードの各々の前記バーコード配列が、分子標識配列を含み、

前記複数の確率バーコードの少なくとも2つの確率バーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含み、

前記複数のバーコードを用いて、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程が、前記複数の確率バーコードを用いて、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドに確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付き相互作用決定オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔374〕～〔443〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 4 5] 前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の複数の標的にバーコードを付けて、複数のバーコード付き標的を生成する工程と；

前記バーコード付き標的のシークエンシングデータを取得する工程と、を含む、前記〔374〕～〔444〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 4 6] 前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、

前記標的のコピーを、前記バーコードの標的結合領域と接触させる工程と；

前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的を逆転写して、複数の逆転写された標的を生成する工程と、を含む、前記〔445〕に記載の方法。

[4 4 7] 前記複数のバーコード付き標的の前記シーケンシングデータを取得する工程の前に、前記バーコード付き標的を増幅して、複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔445〕～〔446〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 4 8] 前記バーコード付き標的を増幅して、前記複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（P C R）によって前記バーコード付き標的を増幅する工程を含む、前記〔447〕に記載の方法。

[4 4 9] 前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、前記複数の確率バーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的に確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔445〕～〔448〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 5 0] タンパク質間相互作用を同定するためのキットであって、

相互作用決定組成物の第1の対であって、

相互作用決定組成物の前記第1の対の各々が、相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられたタンパク質結合試薬を含み、

相互作用決定組成物の前記第1の対の一方の前記タンパク質結合試薬が、第1のタンパク質標的に特異的に結合することが可能であり、相互作用決定組成物の前記第1の対の他方のタンパク質結合試薬が、前記第2のタンパク質標的に特異的に結合することが可能であり、

前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、相互作用決定配列及び架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域を含み、

相互作用決定組成物の前記第1の対の前記相互作用決定配列が、異なる配列を含む、相互作用決定組成物の第1の対と；

相互作用決定組成物の前記第1の対の前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域に特異的に結合することが可能な2つのハイブリダイゼーション領域を各々が含む複数の架橋オリゴヌクレオチドと、を含む、キット。

[4 5 1] 細胞成分間相互作用を同定するためのキットであって、

相互作用決定組成物の第1の対であって、

相互作用決定組成物の前記第1の対の各々が、相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、

相互作用決定組成物の前記第1の対の一方の前記細胞成分結合試薬が、第1の細胞成分標的に特異的に結合することが可能であり、相互作用決定組成物の前記第1の対の他方の細胞成分結合試薬が、前記第2の細胞成分標的に特異的に結合することが可能であり、

前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、相互作用決定配列及び架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域を含み、

相互作用決定組成物の前記第1の対の前記相互作用決定配列が、異なる配列を含む、相互作用決定組成物の第1の対と；

相互作用決定組成物の前記第1の対の前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域に特異的に結合することが可能な2つのハイブリダイゼーション領域を各々が含む複数の架橋オリゴヌクレオチドと、を含む、キット。

[4 5 2] 前記細胞成分結合試薬が、タンパク質結合試薬を含み、前記第1の細胞成分標的が、第1のタンパク質標的を含み、前記第2の細胞成分標的が、第2のタンパク質標的を含む、前記〔451〕に記載のキット。

[4 5 3] 前記相互作用決定配列が、6～60ヌクレオチド長である、前記〔450〕～〔452〕のいずれか一項に記載のキット。

[4 5 4] 前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、50～500ヌクレオチド長である

、前記〔450〕～〔453〕のいずれか一項に記載のキット。

〔455〕相互作用決定組成物の第2の対をさらに含み、相互作用決定組成物の前記第2の対の各々が、相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、相互作用決定組成物の前記第2の対の一方の前記細胞成分結合試薬が、第3の細胞成分標的に特異的に結合することが可能であり、相互作用決定組成物の前記第2の対の他方の前記細胞成分結合試薬が、第4の細胞成分標的に特異的に結合することが可能である、前記〔450〕～〔454〕のいずれか一項に記載のキット。

〔456〕前記第3の細胞成分標的が、第3のタンパク質標的を含み、前記第4の細胞成分標的が、第4のタンパク質標的を含む、いずれかの前記〔455〕に記載のキット。

〔457〕前記第3及び第4の細胞成分標的の少なくとも1つが、前記第1及び第2の細胞成分標的の1つと異なる、前記〔455〕～〔456〕のいずれか一項に記載のキット。

〔458〕前記第3及び第4の細胞成分標的の少なくとも1つ及び前記第1及び第2の細胞成分標的の少なくとも1つが、同一である、前記〔455〕～〔456〕のいずれか一項に記載のキット。

〔459〕前記キットが、相互作用決定組成物の3つ以上の対を含む、前記〔450〕～〔458〕のいずれか一項に記載のキット。

〔460〕相互作用決定組成物の前記3つ以上の対の少なくとも10、100、1000、又はそれらの組合せの相互作用決定組成物の前記相互作用決定配列が、異なる配列を含む、前記〔459〕に記載のキット。

〔461〕前記複数の相互作用決定組成物の2つの相互作用決定組成物の前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域が、異なる配列を含む、前記〔450〕～〔460〕のいずれか一項に記載のキット。

〔462〕前記架橋オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション領域の少なくとも1つが、前記架橋オリゴヌクレオチドの前記2つのハイブリダイゼーション領域の少なくとも1つに相補的である、前記〔450〕～〔461〕のいずれか一項に記載のキット。

〔463〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、抗体、四量体、アプタマー、タンパク質骨格、又はそれらの組合せを含む、前記〔450〕～〔462〕のいずれか一項に記載のキット。

〔464〕前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、リンカーを介して前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬に結合される、前記〔450〕～〔463〕のいずれか一項に記載のキット。

〔465〕前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、対象の任意の細胞のゲノム配列に対して相同でない、前記〔450〕～〔464〕のいずれか一項に記載のキット。

〔466〕前記対象の細胞が、腫瘍細胞又は非腫瘍細胞である、前記〔465〕に記載のキット。

〔467〕前記対象の細胞が、単一細胞、哺乳動物細胞、細菌細胞、ウイルス細胞、酵母細胞、真菌細胞、又はそれらの任意の組合せである、前記〔465〕～〔466〕のいずれか一項に記載のキット。

〔468〕複数のバーコードをさらに含み、前記複数のバーコードの各々が、バーコード配列及び捕捉配列を含む、前記〔450〕～〔467〕のいずれか一項に記載のキット。

〔469〕相互作用決定組成物の前記第1の対の一方の前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードの前記捕捉配列に相補的な配列を含む、前記〔468〕に記載のキット。

〔470〕前記捕捉配列が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔468〕～〔469〕のいずれか一項に記載のキット。

〔471〕前記バーコードの前記捕捉配列に相補的な前記相互作用決定オリゴヌクレオチドの前記配列が、ポリ(dA)領域を含む、前記〔469〕～〔470〕のいずれか一項に記載のキット。

〔472〕相互作用同定組成物の前記第1の対の他方の前記相互作用決定オリゴヌクレオ

チドが、細胞標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔468〕～〔471〕のいずれか一項に記載のキット。

〔473〕前記複数のバーコードが、複数の確率バーコードを含み、

前記複数の確率バーコードの各々の前記バーコード配列が、分子標識配列を含み、

前記複数の確率バーコードの少なくとも2つの確率バーコードの前記分子標識配列が、異なる配列を含む、前記〔468〕～〔472〕のいずれか一項に記載のキット。

〔474〕前記タンパク質標的、又は前記細胞成分標的が、炭水化物、脂質、タンパク質、細胞外タンパク質、細胞表面タンパク質、細胞マーカー、B細胞レセプター、T細胞レセプター、主要組織適合性複合体、腫瘍抗原、レセプター、細胞内タンパク質又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔450〕～〔473〕のいずれか一項に記載のキット。

〔475〕前記タンパク質標的が、10～100の異なるタンパク質標的を含む群から選択され、又は前記細胞成分標的が、10～100の異なる細胞成分標的を含む群から選択される、前記〔450〕～〔474〕のいずれか一項に記載のキット。

〔476〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、同一の配列を有する2つ以上の相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔450〕～〔475〕のいずれか一項に記載のキット。

〔477〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、異なる相互作用決定配列を有する2つ以上の相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔450〕～〔477〕のいずれか一項に記載のキット。

〔478〕相互作用決定組成物の前記第1の対の一方が、前記相互作用決定オリゴヌクレオチドに関連付けられない、第2のタンパク質結合試薬、又は第2の細胞成分結合試薬を含む、前記〔450〕～〔477〕のいずれか一項に記載のキット。

〔479〕前記第1のタンパク質結合試薬及び前記第2のタンパク質結合試薬が同一であるか、又は前記第1の細胞成分結合試薬及び前記第2の細胞成分結合試薬が同一である、前記〔478〕に記載のキット。

〔480〕前記タンパク質結合試薬、又は前記細胞成分結合試薬が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔450〕～〔479〕のいずれか一項に記載のキット。

〔481〕前記複数のバーコードが、粒子に関連付けられる、前記〔450〕～〔480〕のいずれか一項に記載のキット。

〔482〕前記複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードが、前記粒子上に固定されるか、前記粒子上に部分的に固定されるか、前記粒子に封入されるか、前記粒子に部分的に封入されるか、又はそれらの組合せである、前記〔481〕に記載のキット。

〔483〕前記粒子が崩壊性である、前記〔481〕～〔482〕のいずれか一項に記載のキット。

〔484〕前記粒子がビーズを含む、前記〔481〕～〔483〕のいずれか一項に記載のキット。

〔485〕前記粒子が、セファロースビーズ、ストレプトアビジンビーズ、アガロースビーズ、磁気ビーズ、コンジュゲートビーズ、プロテインAコンジュゲートビーズ、プロテインGコンジュゲートビーズ、プロテインA/Gコンジュゲートビーズ、プロテインLコンジュゲートビーズ、オリゴ(dT)コンジュゲートビーズ、シリカビーズ、シリカ様ビーズ、抗ビオチンマイクロビーズ、抗蛍光色素マイクロビーズ、又はそれらの任意の組合せを含み、又は前記粒子が、ポリジメチルシロキサン(PDMS)、ポリスチレン、ガラス、ポリプロピレン、アガロース、ゼラチン、ヒドロゲル、常磁性材料、セラミック、プラスチック、ガラス、メチルスチレン、アクリルポリマー、チタン、ラテックス、セファロース、セルロース、ナイロン、シリコーン、及びそれらの任意の組合せからなる群から選択される材料を含む、前記〔481〕～〔484〕のいずれか一項に記載のキット。

〔486〕前記粒子が、崩壊性ヒドロゲル粒子を含む、前記〔481〕～〔485〕のいずれか一項に記載のキット。

〔487〕前記粒子が、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔481〕～〔486〕のいずれか一項に記載のキット。

[4 8 8] 前記相互作用決定オリゴヌクレオチドが、検出可能な部分に関連付けられる、前記〔481〕～〔487〕のいずれか一項に記載のキット。

[4 8 9] 前記粒子の前記バーコードが、少なくとも 1 0 0 0 、 1 0 0 0 、又はそれらの組合せの異なるバーコード配列から選択されるバーコード配列を含む、前記〔481〕～〔488〕のいずれか一項に記載のキット。

[4 9 0] 前記バーコードの前記バーコード配列が、ランダム配列を含む、前記〔481〕～〔489〕のいずれか一項に記載のキット。

[4 9 1] 前記粒子が、少なくとも 1 0 0 0 0 のバーコードを含む、前記〔481〕～〔490〕のいずれか一項に記載のキット。

[4 9 2] D N A ポリメラーゼ、逆転写酵素、又は固定剤、又はそれらの組合せを含む、前記〔450〕～〔491〕のいずれか一項に記載のキット。

[4 9 3] モロニーマウス白血病ウイルス (M - M L V) 逆転写酵素又は T a q D N A ポリメラーゼを含む、前記〔450〕～〔492〕のいずれか一項に記載のキット。

[4 9 4] サンプル同定のための方法であって、

複数のサンプルの各々に由来する 1 つ以上の細胞を、複数のサンプルインデックス付加組成物のうちの 1 つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記 1 つ以上の細胞が、 1 つ以上の細胞成分標的を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記 1 つ以上の細胞成分標的の少なくとも 1 つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも 2 つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と；

複数のデイジーチェーン接続伸長アンプリコンを生成するために、複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーを用いて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを含む前記複数のデイジーチェーン接続伸長アンプリコンのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも 1 つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記 1 つ以上の細胞の少なくとも 1 つの細胞のサンプル起源を同定する工程と、を含む、方法。

[4 9 5] 前記サンプルインデックス付加配列が、 6 ~ 6 0 ヌクレオチド長である、前記〔494〕に記載の方法。

[4 9 6] 前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、 5 0 ~ 5 0 0 ヌクレオチド長である、前記〔494〕～〔495〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 9 7] 前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも 1 0 、 1 0 0 、 1 0 0 、又はそれらの組合せのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む、前記〔494〕～〔496〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 9 8] 前記細胞成分結合試薬が、抗体、四量体、アプタマー、タンパク質骨格、又はそれらの組合せを含む、前記〔494〕～〔497〕のいずれか一項に記載の方法。

[4 9 9] 前記複数のサンプルインデックス付加組成物の未結合のサンプルインデックス付加組成物を除去する工程を含む、前記〔494〕～〔498〕のいずれか一項に記載の方法。

[5 0 0] 前記複数のサンプルの各々から前記 1 つ以上の細胞を溶解させる工程を含む、

前記〔494〕～〔499〕のいずれか一項に記載の方法。

〔501〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記細胞成分結合試薬から切り離し可能又は切り離し不可能であるように構成される、前記〔494〕～〔500〕のいずれか一項に記載の方法。

〔502〕前記細胞成分結合試薬から前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔494〕～〔501〕のいずれか一項に記載の方法。

〔503〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程が、UV光切断、化学処理、加熱、酵素処理、又はそれらの任意の組合せにより前記細胞成分結合試薬から前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを切り離す工程を含む、前記〔502〕に記載の方法。

〔504〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記1つ以上の細胞のいずれかのゲノム配列に対して相同でない、前記〔494〕～〔503〕のいずれか一項に記載の方法。

〔505〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、1つの種のゲノム配列に対して相同である、前記〔494〕～〔503〕のいずれか一項に記載の方法。

〔506〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、前記複数のバーコードの少なくとも1つのバーコードの捕捉配列に相補的な配列を含む、前記〔494〕～〔505〕のいずれか一項に記載の方法。

〔507〕前記バーコードが、前記捕捉配列を含む標的結合領域を含む、前記〔506〕に記載の方法。

〔508〕前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔507〕に記載の方法。

〔509〕前記バーコードの前記捕捉配列に相補的な前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記配列が、ポリ(dA)領域を含む、前記〔506〕～〔508〕のいずれか一項に記載の方法。

〔510〕前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、分子標識配列、ユニバーサルのための結合部位を含む、前記〔494〕～〔509〕のいずれか一項に記載の方法。

〔511〕前記細胞成分標的が、細胞外タンパク質、細胞内タンパク質、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔494〕～〔510〕のいずれか一項に記載の方法。

〔512〕前記細胞成分結合試薬が、同一の配列を有する2つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔494〕～〔511〕のいずれか一項に記載の方法。

〔513〕前記細胞成分結合試薬が、異なるサンプルインデックス付加配列を有する2つ以上のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられる、前記〔494〕～〔511〕のいずれか一項に記載の方法。

〔514〕前記複数のバーコードのバーコードが、標的結合領域及び分子標識配列を含み、

前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードの分子標識配列が、異なる分子標識配列を含む、前記〔494〕～〔513〕のいずれか一項に記載の方法。

〔515〕前記バーコードが、細胞標識配列、ユニバーサルプライマーのための結合部位、又はそれらの任意の組合せを含む、前記〔514〕に記載の方法。

〔516〕前記標的結合領域が、ポリ(dT)領域を含む、前記〔514〕～〔515〕のいずれか一項に記載の方法。

〔517〕前記複数のバーコードが、粒子に関連付けられる、前記〔514〕～〔516〕のいずれか一項に記載の方法。

〔518〕前記粒子が、崩壊性ヒドロゲルビーズを含む、前記〔517〕に記載の方法。

〔519〕前記粒子の前記バーコードが、少なくとも1000の異なる分子標識配列から選択される分子標識配列を含む、前記〔517〕～〔518〕のいずれか一項に記載の方法。

[520] 前記バーコードの前記分子標識配列が、ランダム配列を含む、前記〔519〕に記載の方法。

[521] 前記粒子が、少なくとも10000のバーコードを含む、前記〔517〕～〔520〕のいずれか一項に記載の方法。

[522] 前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程が、
前記複数のバーコードを、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと接触させて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされたバーコードを生成する工程と；
前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記〔494〕～〔521〕のいずれか一項に記載の方法。

[523] 前記バーコードを伸長する工程が、DNAポリメラーゼを用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔522〕に記載の方法。

[524] 前記バーコードを伸長する工程が、逆転写酵素を用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔522〕に記載の方法。

[525] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（PCR）を用いて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記〔494〕～〔524〕のいずれか一項に記載の方法。

[526] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部を増幅する工程を含む、前記〔494〕～〔525〕のいずれか一項に記載の方法。

[527] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの各デイジーチェーン接続増幅プライマーが、バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域及びオーバーハング領域を含み、前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのデイジーチェーン接続サンプルインデックス付加領域に結合することが可能である、前記〔494〕～〔526〕のいずれか一項に記載の方法。

[528] 前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、20～200ヌクレオチド長である、前記〔527〕に記載の方法。

[529] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一の配列を有するバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域を含む、前記〔527〕～〔528〕のいずれか一項に記載の方法。

[530] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一の配列を有するバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域を含む、前記〔527〕～〔529〕のいずれか一項に記載の方法。

[531] 前記オーバーハング領域が、50～500ヌクレオチド長である、前記〔527〕～〔530〕のいずれか一項に記載の方法。

[532] 前記オーバーハング領域が、デイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を含む、前記〔527〕～〔531〕のいずれか一項に記載の方法。

[533] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一のデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を有するオーバーハング領域を含む、いずれかの前記〔532〕に記載の方法。

[534] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接

続増幅プライマーが、2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を有するオーバーハング領域を含む、いずれかの前記〔532〕に記載の方法。

〔535〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーのオーバーハング領域が、異なるデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を含む、いずれかの前記〔532〕に記載の方法。

〔536〕前記複数のデイジーチェーン接続伸長アンプリコンのデイジーチェーン接続伸長アンプリコンが、250～1000ヌクレオチド長である、前記〔527〕～〔535〕のいずれか一項に記載の方法。

〔537〕前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部をシーケンシングする工程を含む、前記〔494〕～〔536〕のいずれか一項に記載の方法。

〔538〕前記少なくとも1つの細胞の前記サンプル起源を同定する工程が、前記少なくとも1つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記複数のバーコード付き標的のサンプル起源を同定する工程を含む、前記〔494〕～〔537〕のいずれか一項に記載の方法。

〔539〕前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔494〕～〔538〕のいずれか一項に記載の方法。

〔540〕前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の複数の標的にバーコードを付けて、複数のバーコード付き標的を生成する工程であって、前記複数のバーコードの各々が、細胞標識配列を含み、前記複数のバーコードの少なくとも2つのバーコードが、同一の細胞標識配列を含む工程と；

前記バーコード付き標的のシーケンシングデータを取得する工程と、を含む、前記〔494〕～〔539〕のいずれか一項に記載の方法。

〔541〕前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、

前記標的のコピーを、前記バーコードの標的結合領域と接触させる工程と；

前記複数のバーコードを用いて、前記複数の標的を逆転写して、複数の逆転写された標的を生成する工程と、を含む、前記〔540〕に記載の方法。

〔542〕前記複数のバーコード付き標的の前記シーケンシングデータを取得する工程の前に、前記バーコード付き標的を増幅して、複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔540〕～〔541〕のいずれか一項に記載の方法。

〔543〕前記バーコード付き標的を増幅して、前記複数の増幅されたバーコード付き標的を生成する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（PCR）によって前記バーコード付き標的を増幅する工程を含む、前記〔542〕に記載の方法。

〔544〕前記複数のバーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的にバーコードを付けて、前記複数のバーコード付き標的を生成する工程が、複数の確率バーコードを用いて、前記細胞の前記複数の標的に確率バーコードを付けて、複数の確率バーコード付き標的を生成する工程を含む、前記〔540〕～〔543〕のいずれか一項に記載の方法。

〔545〕サンプル同定のための方法であって、

複数のサンプルの各々に由来する1つ以上の細胞を、複数のサンプルインデックス付加組成物のうちの1つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記1つ以上の細胞の各々が、1つ以上の結合標的を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記1つ以上の結合標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列

を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と；

複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーを用いて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記1つ以上の細胞の少なくとも1つの細胞のサンプル起源を同定する工程と、を含む、方法。

[546] 前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付ける工程が、

前記複数のバーコードを、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと接触させて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされたバーコードを生成する工程と；

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記[545]に記載の方法。

[547] 前記バーコードを伸長する工程が、DNAポリメラーゼを用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記[546]に記載の方法。

[548] 前記バーコードを伸長する工程が、逆転写酵素を用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記[546]に記載の方法。

[549] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記[546]～[548]のいずれか一項に記載の方法。

[550] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応(PCR)を用いて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記[549]に記載の方法。

[551] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部を増幅する工程を含む、前記[549]～[550]のいずれか一項に記載の方法。

[552] 前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、前記複数のデイジーチェーン接続伸長アンプリコンを生成するために、前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーを用いて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記[549]～[551]のいずれか一項に記載の方法。

[553] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域及びオーバーハング領域を含み、前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのデイジーチェーン接続サンプルインデックス付加領域に結合することが可能である、前記[552]に記載の方法。

[554] 前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、20～200ヌクレオチド長である、前記[553]に記載の方法。

[555] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一の配列を有するバーコード付きサンプルインデックス付加オリ

ゴヌクレオチド結合領域を含む、前記〔553〕～〔554〕のいずれか一項に記載の方法。

〔556〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一の配列を有するバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域を含む、前記〔553〕～〔554〕のいずれか一項に記載の方法。

〔557〕前記オーバーハング領域が、50～500ヌクレオチド長である、前記〔553〕～〔556〕のいずれか一項に記載の方法。

〔558〕前記オーバーハング領域が、デイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を含む、前記〔553〕～〔557〕のいずれか一項に記載の方法。

〔559〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一のデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を有するオーバーハング領域を含む、いずれかの前記〔558〕に記載の方法。

〔560〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を有するオーバーハング領域を含む、いずれかの前記〔558〕に記載の方法。

〔561〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーのオーバーハング領域が、異なるデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を含む、いずれかの前記〔558〕に記載の方法。

〔562〕前記複数のデイジーチェーン接続伸長アンプリコンのデイジーチェーン接続伸長アンプリコンが、250～1000ヌクレオチド長である、前記〔553〕～〔561〕のいずれか一項に記載の方法。

〔563〕前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記シーケンシングデータを取得する工程が、前記複数のデイジーチェーン接続伸長アンプリコンのシーケンシングデータを取得する工程を含む、前記〔545〕～〔562〕のいずれか一項に記載の方法。

〔564〕サンプル同定のための方法であって、

複数のサンプルの各々に由来する1つ以上の細胞を、複数のサンプルインデックス付加組成物のうちの1つのサンプルインデックス付加組成物と接触させる工程であって、

前記1つ以上の細胞の各々が、1つ以上の細胞成分標的を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、前記細胞成分結合試薬が、前記1つ以上の細胞成分標的の少なくとも1つに特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルインデックス付加配列を含み、前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む工程と；

前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも1つのサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列及び複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーに基づいて、前記1つ以上の細胞の少なくとも1つの細胞のサンプル起源を同定する工程と、を含む、方法。

〔565〕前記少なくとも1つの細胞の前記サンプル起源を同定する工程が、

複数のバーコードを用いて、前記複数のサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにバーコードを付けて、複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と；

前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのシーケンシングデータを取得する工程と；

前記シーケンシングデータ中の前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも1つのバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの前記サンプルインデックス付加配列に基づいて、前記細胞の前記サンプル起源を同定する工程と、を含む、前記〔564〕に記載の方法。

〔566〕前記複数のバーコードを用いて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレ

オチドにバーコードを付ける工程が、

前記複数のバーコードを、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドと接触させて、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされたバーコードを生成する工程と；

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドにハイブリダイズされた前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程と、を含む、前記〔565〕に記載の方法。

〔567〕前記バーコードを伸長する工程が、DNAポリメラーゼを用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔566〕に記載の方法。

〔568〕前記バーコードを伸長する工程が、逆転写酵素を用いて、前記バーコードを伸長して、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを生成する工程を含む、前記〔566〕に記載の方法。

〔569〕前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記〔565〕～〔568〕のいずれか一項に記載の方法。

〔570〕前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、ポリメラーゼ鎖反応（PCR）を用いて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記〔569〕に記載の方法。

〔571〕前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、前記分子標識配列の少なくとも一部及び前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドの少なくとも一部を増幅する工程を含む、前記〔569〕～〔570〕のいずれか一項に記載の方法。

〔572〕前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程が、複数のデイジーチェーン接続伸長アンプリコンを生成するために、前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーを用いて、前記複数のバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドを増幅する工程を含む、前記〔569〕～〔571〕のいずれか一項に記載の方法。

〔573〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域及びオーバーハング領域を含み、前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのデイジーチェーン接続サンプルインデックス付加領域に結合することが可能である、前記〔572〕に記載の方法。

〔574〕前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、20～200ヌクレオチド長である、前記〔573〕に記載の方法。

〔575〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一の配列を有するバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域を含む、前記〔573〕～〔574〕のいずれか一項に記載の方法。

〔576〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一の配列を有するバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域を含む、前記〔573〕～〔574〕のいずれか一項に記載の方法。

〔577〕前記オーバーハング領域が、50～500ヌクレオチド長である、前記〔573〕～〔576〕のいずれか一項に記載の方法。

〔578〕前記オーバーハング領域が、デイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を含む、前記〔573〕～〔577〕のいずれか一項に記載の方法。

〔579〕前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一のデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を有するオーバーハング領域を含む、いずれかの前記〔578〕に記載の方法。

[5 8 0] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を有するオーバーハング領域を含む、いずれかの前記〔578〕に記載の方法。

[5 8 1] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーのオーバーハング領域が、異なるデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を含む、いずれかの前記〔578〕に記載の方法。

[5 8 2] 前記複数のデイジーチェーン接続伸長アンプリコンのデイジーチェーン接続伸長アンプリコンが、250～1000ヌクレオチド長である、前記〔573〕～〔581〕のいずれか一項に記載の方法。

[5 8 3] 複数のサンプルインデックス付加組成物であって、

前記複数のサンプルインデックス付加組成物の各々が、サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドに関連付けられた細胞成分結合試薬を含み、

前記細胞成分結合試薬が、少なくとも1つの細胞成分標的に特異的に結合することが可能であり、

前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドが、サンプルの1つ以上の細胞のサンプル起源を同定するためのサンプルインデックス付加配列及びデイジーチェーン接続増幅プライマー結合配列を含み、

前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも2つのサンプルインデックス付加組成物のサンプルインデックス付加配列が、異なる配列を含む、複数のサンプルインデックス付加組成物と；

複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーと、を含む、キット。

[5 8 4] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域及びオーバーハング領域を含み、前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、前記サンプルインデックス付加オリゴヌクレオチドのデイジーチェーン接続サンプルインデックス付加領域に結合することが可能である、前記〔583〕に記載のキット。

[5 8 5] 前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、20～200ヌクレオチド長である、前記〔584〕に記載のキット。

[5 8 6] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一の配列を有するバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域を含む、前記〔584〕～〔585〕のいずれか一項に記載のキット。

[5 8 7] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、異なる配列を有するバーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域を含む、前記〔584〕～〔585〕のいずれか一項に記載のキット。

[5 8 8] 前記バーコード付きサンプルインデックス付加オリゴヌクレオチド結合領域が、前記デイジーチェーン接続増幅プライマー結合配列、その相補体、その逆相補体、又はそれらの組合せを含む、前記〔586〕～〔587〕のいずれか一項に記載のキット。

[5 8 9] 前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも2つのサンプルインデックス付加組成物のデイジーチェーン接続増幅プライマー結合配列が、同一の配列を含む、前記〔584〕～〔588〕のいずれか一項に記載のキット。

[5 9 0] 前記複数のサンプルインデックス付加組成物の少なくとも2つのサンプルインデックス付加組成物のデイジーチェーン接続増幅プライマー結合配列が、異なる配列を含む、前記〔584〕～〔588〕のいずれか一項に記載のキット。

[5 9 1] 前記オーバーハング領域が、50～500ヌクレオチド長である、前記〔584〕～〔590〕のいずれか一項に記載のキット。

[5 9 2] 前記オーバーハング領域が、デイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を含む、前記〔584〕～〔590〕のいずれか一項に記載のキット。

[5 9 3] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、同一のデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を有するオーバーハング領域を含む、いずれかの前記〔592〕に記載のキット。

[5 9 4] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーの2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーが、2つのデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を有するオーバーハング領域を含む、いずれかの前記〔592〕に記載のキット。

[5 9 5] 前記複数のデイジーチェーン接続増幅プライマーのオーバーハング領域が、異なるデイジーチェーン接続増幅プライマーバーコード配列を含む、いずれかの前記〔592〕に記載のキット。